Zur Kenntnis der pflanzlichen Zellmembran

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Philosophischen Fakultät Sektion II
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt im Februar 1927
von

Felix Steigerwaldt
aus München.

München.
Druck der Salesianischen Offizin.
1927.

Zur Kenntnis der pflanzlichen Zellmembran

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Philosophischen Fakultät Sektion II
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt im Februar 1927
von

Felix Steigerwaldt
aus München.

München.
Druck der Salesianischen Offizin.
1927.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARER VEREHRUNG.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548312_0071

Vorliegende Arbeit wurde im Chemischen Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften in München ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. ERICH SCHMIDT,

auf dessen Anregung die Arbeit entstand, für seine liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Ebenso bin ich Herrn Privatdozenten Dr. H. KRAUT für seine stets bereitwilligst gewährte Unterstützung bei Ausführung der Adsorptionsarbeit zu besonderem Danke verpflichtet.

Herrn Geheimrat Professor Dr. R. WILLSTÄTTER und Herrn Professor Dr. O. HÖNIGSCHMID gestatte ich mir auch an dieser Stelle nochmals für das Interesse, das sie meinen Studien entgegengebracht haben, ergebenst zu danken.

INHALTSÜBERSICHT.

		Seite
Einleitung		7
I. TEIL:	Über die Natriumsulfitlöslichkeit von Hemicellulosen in nicht-inkrustierten Zellwänden	9
	Untersuchung des Aufschlusses der Zellmembran von Orangen und Zuckerrüben	12
	Aufschluß von Buchenholz bei gemilderter Einwirkung von Natriumsulfit	14
II. TEIL:	Die Isolation einer polymeten Säure aus der Skelettsubstanz der Rotbuche	17
	Die präparative Isolation einer polymeren Säure	19
III. TEIL:	Anwendung der Adsorptionsmethode in der Zellmembranforschung	22
	Einleitung	22
	Geschichtliches	23
	Problemstellung	24
	Theoretische Betrachtungen zur Adsorption von Hemicellulosen	25
	Adsorptionsversuche an Hemicellulosen	29
	Adsorptionsversuche mit Ferrihydroxyd und Kaolin als Adsorbens	41
	Die Ergebnisse meiner Untersuchungen	45
Zusammenfassung		46

EINLEITUNG.

Nach den bisherigen Ansichten besteht die pflanzliche Zellmembran der Archegoniaten und der Phanerogamen aus Cellulose, Hemicellulosen und inkrustierenden Substanzen. Über die Art aber, wie sich aus diesen Bausteinen die Zellmembran aufbaut, ob durch chemische Bindung der einzelnen Komponenten oder durch physikalische Nebeneinanderlagerung, geben uns die Arbeiten der einzelnen Forscher keinen bindenden Aufschluß. Heute ist allerdings die Ansicht, daß Hemicellulosen und Inkrusten mit der Cellulose als Gemenge vereinigt, oder durch Oberflächenadsorption auf ihr niedergeschlagen seien, die allgemein geltende. Diese Betrachtungsweise ist wohl dadurch veranlaßt, daß gerade in den letzten Jahren die Forschung sich fast ausschließlich um die Darstellung der Reincellulose zur Konstitutionsaufklärung des Moleküls bemühte und den Hemicellulosen, die man nur als Verunreinigungen zu beseitigen suchte, wenig Beachtung schenkte.

B. TOLLENS[1] allerdings stellt sich bereits gegen diese Ansicht, wenn er glaubt annehmen zu können, „daß Cellulose und Xylan nicht als einfaches Gemenge, sondern in inniger Vereinigung, vielleicht als chemische Verbindung in der verholzten Membran vorhanden sind". Als Erster weist E. SCHULZE darauf hin, daß in der Zellmembran verschiedene Arten von Hemicellulosen vorkommen müssen. Die verschiedene Löslichkeit in siedendem Wasser, sowie in freiem und gepuffertem Alkali lassen ihn zu diesem Schluß kommen. Diese Löslichkeitsunterschiede aber sprechen wohl mit am meisten für die Annahme einer chemischen Bindung in der Zellmembran. So hat auf Grund dieser bedeutungsvollen Tatsachen E. SCHMIDT mit seinen Mitarbeitern begonnen, das unterschiedliche Verhalten der Hemicellulosen und ihre Verknüpfung in der Zellwand zu untersuchen. Zu diesem Zweck

[1] C. SCHULZE und B. TOLLENS, Landwirtschaftl. Versuchsstation **40**, 377 (1892).

muß ein Aufschlußverfahren ausgearbeitet werden, das die inkrustierenden Substanzen restlos aus der Zellwand entfernt, ohne die Hemicellulosen chemisch zu verändern. Es ist deshalb ein stark saures bezw. alkalisches Medium bei der leichten Hydrolysierbarkeit der Hemicellulosen von vornherein ausgeschlossen. Das von E. SCHMIDT gewählte Chlordioxyd ist nun in diesem Sinne weitgehendst geeignet. Es hat sich als ein spezifisch wirkendes Reagens erwiesen, das die inkrustierenden Substanzen tiefgehend verändert, gegen Kohlehydrate aber in der geringen Konzentration, in der es verwendet wird, indifferent ist. Mit Hilfe einer exakt ausgearbeiteten analytischen Methode läßt sich das Ende des Aufschlusses, der aus einer Wechselwirkung von Chlordioxyd und Natriumsulfit besteht, feststellen.[1] Diesen gegen Chlordioxyd stabilen Körper, der sich auch gegen Natriumsulfit als konstant erweist, bezeichnen wir als Skelettsubstanz. Von dieser Skelettsubstanz nehmen wir an, daß sie kein willkürliches Endprodukt des Aufschlusses ist, sondern daß ihr pflanzenphysiologische Bedeutung zukommt. Die während des Aufschlusses durch Natriumsulfit herausgelösten Hemicellulosen gehören nicht dem Komplex der Skelettsubstanz an, der während des Aufschlusses unverändert geblieben ist, sondern sind den Inkrusten zuzuzählen. Wir unterscheiden also streng zwischen den Hemicellulosen der Skelettsubstanz (H_s) und denen der Inkrusten (H_i). Während nämlich die letzteren natriumsulfitlöslich sind, gehen die Hemicellulosen der Skelettsubstanz erst mit 5 proz. Natronlauge in Lösung. In den Hydrolysenprodukten der Hemicellulosen, die mit Natronlauge aus den Skelettsubstanzen von Flachs, Hanf und Weizenstroh erhalten wurden, findet sich auch Glykuronsäure, und zwar nicht in monomerer Form, sondern als carboxyltragendes Polysaccharid. In den Skelettsubstanzen von Adlerfarn, Fichte, Tanne, Rotbuche und Schwarzwurzel konnte eine derartige Säure auf konduktometrischem Wege nachgewiesen werden. Da bei Pflanzen aus jenen in systematischer Hinsicht weitgehendst verschiedenen Gruppen, nämlich den Archegoniaten und den Phanerogamen, nach den Untersuchungen von E. SCHMIDT und Mitarbeitern gleiche Verhältnisse vorliegen, so darf man wohl die Anwesenheit carboxyltragender Polysaccharide verallgemeinern.

[1] E. SCHMIDT und G. MALYOTH, B. **57**, 1836 (1924).

I.

Über die Natriumsulfitlöslichkeit von Hemicellulosen in nichtinkrustierten Zellwänden.

E. SCHULZE, der Entdecker der Hemicellulosen, hat in seinen zahlreichen Untersuchungen feststellen können, daß am Aufbau der Hemicellulosen folgende monomeren Bausteine beteiligt sind, nämlich: Glycose, Mannose, Galaktose, Xylose und Arabinose. Er hat insbesondere Untersuchungen über die analytisch leicht nachweisbare Galaktose, die als Spaltstück von Galaktanen auftritt, angestellt. In seinen Arbeiten über die Erbse (Pisum sativum) und Lupine[1] hat er feststellen können, daß diese Pflanzensamen auffallend reichliche Mengen Galaktan enthalten. Dieses Galaktan verschwindet nun, wie SCHULZE nachweisen konnte, beim Keimungsvorgang und ist in den Keimlingen (Kotyledonen) nicht mehr vorhanden. Nach der Ansicht des genannten Forschers geht daraus hervor, daß die als Galaktane auftretenden Hemicellulosen, ähnlich wie Stärke und Inulin unter die Reservekohlehydrate einzureihen sind. Sie sind somit für das Wachstum der Pflanze verbraucht und lassen sich daher in den Keimlingen nicht mehr nachweisen. Japanische Forscher haben später diese Untersuchungen wieder aufgenommen[2] und sind zum gleichen Ergebnis wie SCHULZE gelangt. Sie weisen ausdrücklich auf das Fehlen von Galaktan in der jungen Zellwand des Bambus (Schößlinge von Sasa paniculata) hin. Im Sinne der heutigen Membranforschung würde das für den intimeren Wachstumsvorgang einer Pflanze dahin zu deuten sein, daß für die Ausbildung der Skelettsubstanz, d. h. also des Cellulose-Hemicellulosen-Komplexes, nur Glycose und ihre Umwandlungsprodukte von der Pflanze verwendet werden. Diese Umwandlungsprodukte bestehen aus der Cellulose, aus den ähnlich gebauten Glycosanen, den Xylanen, die durch Abbau der Glycose entstehen, und endlich aus dem Zwischenglied, der Glykuronsäure, die sich zu polymerer Anhydro-Glykuronsäure um-

[1] E. SCHULZE und STEIGER, Landwirtschaftl. Versuchsstation 36, 391 (1889).
[2] K. MIJAKE und T. TADOKORO, Journ. of the Kollege of agriculture, Imperial University, Sapporo Japan, 4, 252.

wandelt. Daß Glycose Glykuronsäure liefert und diese wiederum zu Xylose abgebaut werden kann, hat SALKOWSKI mittels Fäulnisbakterien gezeigt und haben GROSS, BEVAN und E. FISCHER in hohem Maße wahrscheinlich gemacht. Während also die Glycose als Baustein des Cellulose-Hemicellulosen-Komplexes verwandt wird, fällt der Galaktose, die sich in alternden Zellwänden vorfindet, eine grundsätzlich andere Aufgabe zu. Man kann nämlich bei der Pflanze nach Fertigstellung des Cellulose-Hemicellulosen-Komplexes und nach Resorption der Galaktane, die, wie bereits erwähnt, sich als Reservematerial in den Samen vorfinden, das allmähliche Auftreten von Galaktose beobachten. Die Hydrolyse der alternden Zellwand ergibt nämlich neben der Galaktose gleichzeitig auch Arabinose. Unter alternder Zellwand verstehen wir den Zustand, sobald es zur Entfaltung der Blätter kommt. Gleichzeitig mit diesen beiden Zuckern wird stets auch die Galakturonsäure aufgefunden. Die Beziehungen von Galaktose zu Arabinose führen also zu dem analogen Zwischenprodukt des Übergangs von Galaktose zu Arabinose, nämlich zur Galakturonsäure.

Aus diesen physiologischen Betrachtungen heraus folgt nun zwingend, daß wir es, chemisch gesprochen, mit zwei verschiedenen Arten von Hemicellulosen zu tun haben müssen. Nach den bisherigen Untersuchungen scheint diese Ansicht auch bestätigt. Es war also demnach vorauszusehen, daß in dem an die Cellulose geknüpften Hemicellulosen-Komplex sowohl die Galaktose selbst, als auch ihre Umwandlungsprodukte Arabinose und Galakturonsäure nicht anzutreffen sind. Diese Frage, an deren Beantwortung derzeitig gearbeitet wird, ist für die Zellwandforschung im allgemeinen, für eine Zweiteilung der Hemicellulosen in der Zellwand im besonderen von ausschlaggebender Bedeutung. Bisher wurde diese Frage an einer Gymnosperme (Fichte, Pixa excelsa) und einer Dikotyledone (Flachs, Linum usitatissimum) untersucht und zwar mit dem Ergebnis, daß die an die Cellulose gebundenen Hemicellulosen frei von Galaktose sind.

Bei den stark inkrustierten Zellwänden, wie z. B. beim Holz, finden sich nun außer Kohlehydraten noch ungesättigte organische Substanzen vor, die als Lignin bezeichnet werden. Zum Aufschluß derartiger ligninhaltiger Membranen bedienen wir uns des Chlordioxyds, weil sich dieses den Kohlehydraten gegenüber innerhalb gewisser Konzentrationen als vollkommen indifferent verhält. Die Umsetzungsprodukte des Lignins und des Chlordioxyds sind aber nicht vollkommen löslich, sondern verbleiben zum Teil auf der Faser und bedürfen eines gepufferten Alkalis (Natriumsulfit) zur

vollkommenen Lösung. Bei dieser Reaktion werden aber gleichzeitig Kohlehydrate durch Natriumsulfit gelöst und man könnte den Einwand machen, daß diese alkalilöslichen Kohlehydrate Abbauprodukte sind, die auf oxydativem Wege oder durch hydrolysierende Einwirkung der beim Aufschluß aus Chlordioxyd gebildeten Chlorwasserstoffsäure entstanden sind. Wir können aber diese beiden Einwände nach den zum Aufschluß verwendeten Chlordioxydkonzentrationen als hinfällig betrachten.[1] Somit bleibt nichts anderes übrig als anzunehmen, daß diese natriumsulfitlöslichen Hemicellulosen durch die Einwirkung von Chlordioxyd nicht verändert werden, sondern durch die Zertrümmerung des Lignins nur leichter löslich gemacht werden, als vor der Behandlung mit Chlordioxyd. Um nun die Frage zu entscheiden, ob sich in nichtinkrustiertem Material tatsächlich natriumsulfitlösliche Hemicellulosen vorfinden, haben wir ein als nicht verholzt zu betrachtendes Material untersucht, nämlich Orangen und Zuckerrüben. An diesen Pflanzenteilen ergab sich, daß eine Einwirkung von Chlordioxyd nicht nötig ist, um einen großen Teil der Zellwand in Natriumsulfit bei Wasserbadtemperatur zu lösen. Dieser Teil ist der Zellwand übrigens auch, wie F. EHRLICH und F. SCHUBERT[2] mitteilen, durch Behandlung mit siedendem Wasser zu entziehen. Dasselbe Verhalten zeigen alle Zellwände. Nur in dem Fall, wo in der Zuckerrübe keine aromatische Komponente vorliegt, mit der diese Kohlehydrate wechselweise gebunden sind, vollzieht sich die Lösung der Hemicellulosen mit Natriumsulfit leichter, als wenn die Zellwand inkrustiert ist. Daß es sich aber hier um ähnliche Verhältnisse handelt, geht daraus hervor, daß sich in den heißwasserlöslichen Bestandteilen der Zuckerrübe Galaktane befinden, die sich nach SCHORGER gleichfalls in den Heißwasserextrakten von Larix vorfinden. Was die Löslichkeit der Pektinsubstanzen in heißem Wasser und ihre noch leichtere Löslichkeit in Natriumsulfit betrifft, so kann man sich vorstellen, daß die schwerlöslichen Calciumsalze in leichtlösliche Natriumsalze übergeführt werden, während andererseits in den verholzten Zellwänden das Calcium durch den inkrustierenden Anteil vertreten wird, den man, um die Lösung genannter Hemicellulosen zu erreichen, zertrümmern muß. Aus diesem Grunde ist verständlich, daß mit dem Nichtvorhandensein eines von Chlordioxyd angreifbaren Membranbestandteiles nicht wie bei verholzten Materialien Chlordioxyd- und Natriumsulfitstabilität zusammenfallen können.

[1] E. SCHMIDT und G. MALYOTH, B. **54** (1925).
[2] F. EHRLICH und F. SCHUBERT, Biochem. Zeitschrift **169**, 15ff. (1926).

Untersuchung des Aufschlusses der Zellmembran von Orangen und Zuckerrüben.

Als Beispiel einer nichtinkrustierten Zellmembran wurden sizilianische Bitterorangen und Zuckerrüben verwendet. Die Bitterorangen wurden nach Fruchtfleisch, Mesocarp (weiße Schale) und Epidermis (gelbe Schale) getrennt, verarbeitet. Die Fruchtsäfte und Farbstoffe werden durch Behandlung mit Aceton entfernt. Zum Aufschluß liegt ein neutrales, farbloses Material vor. Verwendet wurde nur Fruchtfleisch und Mesocarp. Dem eigentlichen Aufschluß ging eine zweistündige Behandlung des Materials am Wasserbad bei 70° mit destilliertem Wasser voraus. Die sämtlichen Filtrate wurden im Vakuum eingedampft und im Exsikkator zur Trockne gebracht.

Durch die dreimalige Warmwasserbehandlung von Fruchtfleisch und Mesocarp der Bitterorangen wurden aus der Zellwand herausgelöst:

	Fruchtfleisch	Mesocarp
1. Behandlung:	3,84%	4,5%
2. „	1,69%	1,9%
3. „	1,53%	1,4%
Zusammen also:	7,06%	7,8%

Dieses warmwasservorbehandelte Material zeigte bei einem Abkochungsversuch noch eine Abnahme von insgesamt 14,83% für Fruchtfleisch und 11,02% für Mesocarp. Im einzelnen waren herausgeholt:

	Fruchtfleisch	Mesocarp
1. Abkochung:	8,47%	4,41%
2. „	4,24%	4,41%
3. „	2,12%	2,2 %

Beim ersten Aufschluß wurden herausgelöst:

	Fruchtfleisch	Mesocarp
Durch Chlordioxyd:	6,12%	2,6%
„ Natriumsulfit:	24,75%	8,5%
Zusammen also:	30,87%	11,1%
Beim zweiten Aufschluß:		
Durch Chlordioxyd:	0,86%	1,72%
„ Natriumsulfit:	3,87%	3,45%
Zusammen also:	4,73%	5,17 %

Das Fehlen von Inkrusten mußte uns, wie oben dargetan, ein derartiges Resultat erwarten lassen. Die Versuche haben also unsere Ansicht von der Natriumsulfitlöslichkeit der Hemicellulosen weitgehend bestätigt. Das aufgeschlossene Material ist nun gegen Chlordioxyd stabil, nicht aber gegen Natriumsulfit. Die genauen Bestimmungen wurden nur beim Fruchtfleisch ausgeführt. Der Lagerversuch auf Chlordioxydstabilität ergab einen Fehler von 0,36%.

Die quantitative Natriumsulfitbestimmung ergab:

	Bestimmung	Kontrollbestimmung
Einwage:	0,5674 g	1,3500 g
Abnahme in g:	0,0146 g	0,0358 g
„ „ %:	2,57%	3%

Das Material zeigt also keine Stabilität gegen Natriumsulfit. Eine nochmalige Behandlung mit Natriumsulfit ergab dann:

Einwage:	0,5506 g	0,5374 g
Abnahme in g:	0,0081 g	0,0080 g
„ „ %:	1,46%	1,50%

Ein ähnliches Verhalten zeigten die Zuckerrüben. Frische Zuckerrüben waren geschält und geschnitzelt worden. Durch längeres Dialysieren in Wasser wurde der Zucker vollständig ausgelaugt. Das neutrale und geschmacklose Material kam dann zum Aufschluß. Auch hier geht eine Warmwasserbehandlung voraus.

1. Warmwasserbehandlung	3,3% Abnahme
2. „	2,7% „
3. „	1,0% „
Zusammen also:	7,0% Abnahme.

Durch den ersten Aufschluß wurden herausgelöst:

Von Chlordioxyd	1,4%
„ Natriumsulfit	10,8%
Zusammen also:	12,2%

Beim zweiten Aufschluß:

Von Chlordioxyd	0,7%
„ Natriumsulfit	9,7%
Zusammen also:	10,4%

Der Lagerversuch auf Chlordioxydstabilität ergibt eine Konstanz des Materials gegen Chlordioxyd (Fehler 0,29%). Die Natriumsulfitbestimmung ergab aber noch eine Abnahme von 44,6%.

Aufschluß von Buchenholz bei gemilderter Einwirkung von Natriumsulfit.

Um eine eventuelle Schädigung des Materials durch die Einwirkung von überschüssiger Natriumsulfitlösung zu verhindern, wurde ein Aufschluß unter milderen Bedingungen durchgeführt. Als Ausgangsmaterial wird Holz von der Rotbuche (Fagus silvatica) genommen. Und zwar war das verwendete Holz 7 m über dem Erdboden aus dem Stamme einer 70 Jahre alten Buche. Als fein gesiebtes Mehl kommt es zur Verwendung. Während nun früher vor dem Aufschluß mit Chlordioxyd das Material mit Aceton vorbehandelt wurde, unterbleibt dies nun, da ja die Inkrusten nicht untersucht werden und deshalb eine Verunreinigung der Filtrate durch Harz belanglos ist. Diesmal wird das Holz sofort in Chlordioxyd gegeben. Der Ansatz war 1000 g trockenes Buchenholzmehl in 10 Liter 0,13proz. Chlordioxydlösung. Nach knappen 12 Stunden ist das Chlordioxyd bereits vollständig verbraucht und es muß neues zugegeben werden. Diese Behandlung erfolgt nun noch zweimal. Im ganzen war also das Material viermal in Chlordioxyd gegeben worden, ehe die Abnahme des Chlordioxyds während dreier Tage nicht zum vollständigen Verbrauch führte. Nun wurde mit der Natriumsulfitbehandlung begonnen. Früher war auf 100 g Material 1 Liter 2proz. Natriumsulfitlösung gegeben und 2 Stunden auf dem Wasserbad bei 70° erhitzt worden. Diesmal aber erfolgte eben zur Schonung des Materials eine Abänderung des Natriumsulfitaufschlusses. Das gesamte Material kam in 7—8 Liter Wasser von 65°. Die Temperatur sank sofort auf 45—50°. Bei dieser Temperatur wurden nun 280 ccm Natriumsulfitlösung, die in der Kälte gesättigt war, aus einer Bürette zugegeben, bis die Lösung gerade leicht alkalisch war. Bereits aber nach 4 Minuten verschwand die alkalische Reaktion und es mußten weitere 234 ccm Natriumlösung zutitriert werden, bis die alkalische Reaktion eine halbe Stunde anhielt. Die Temperatur war nach Ablauf dieser Zeit auf 35—40° zurückgegangen. Während der ganzen Zeit wurde durch anhaltendes Rühren ein Absetzen des Materials möglichst verhindert. Die Reaktion der Flüssigkeit war nur ganz leicht alkalisch. Nach Beendigung der Natriumsulfitbehandlung wird durch die Nutsche abgegossen und zuerst mit einigen Litern warmen Wassers von 35° und dann mit Wasser von gewöhnlicher Temperatur (15°) ausgewaschen. Das Auswaschen geschah so lange bis weder Waschwasser noch Substanz alkalische Reaktion zeigten, dann wurde abfiltriert und stark ausgepreßt. Das Material hatte

dieselbe rötlichbraune Farbe, wie die abgegossene Flüssigkeit. Es wurde nun ein neuer Chlordioxydaufschluß angesetzt. Der neue Aufschluß bleibt 3 Tage lang stehen. Das Holz ist unter dem Chlordioxyd wieder vollkommen hell (leicht gelblich) geworden. Dieser wechselweise Aufschluß mit Chlordioxyd und Natriumsulfit erfolgte je elfmal. Bei der fünften Natriumsulfitbehandlung hatte die Flüssigkeit grüngelbliche Farbe. Das Material erschien nun ausgesprochen gelb. Diese Färbung nahm mit dem Fortschreiten des Aufschlusses immer mehr ab, bis das Material bei der 11. Natriumsulfitbehandlung rein weiß bleibt. Ein nach der 10. Natriumsulfitbehandlung angestellter Lagerversuch ergab noch einen Fehler von 2,4%. Erst nach der 11. Natriumsulfitbehandlung zeigte der Lagerversuch Konstanz des Materials gegen Chlordioxyd.

I.	II.	III.	IV.
7,99	7,85	7,83	8,00

Fehler: 1,88%. Differenz: 0,15.

Eine Titration auf polymere Säure ergab 11,38% Glykuronsäure. Das Material wird nun tüchtig ausgepreßt und gewogen. Wir haben 1950 g feuchtes Material. Eine Feuchtigkeitsbestimmung ergab einen Gehalt von 75% Feuchtigkeit. Danach entsprechen also 1950 g feuchtem Material 478,7 g Trockenmaterial. Es sind also 521,3 g = 52,13% inkrustierende Bestandteile herausgelöst worden. Ein Teil dieses Materials wird sofort zur Isolation der polymeren Säure verwendet, das übrige kommt unter 96proz. Alkohol.

Versuche,
das Natriumsulfit durch ein milder wirkendes Alkali, wie z. B. Ammoniumsulfit oder Harnstoff, zu ersetzen.

Es wurden Versuche angesetzt mit 2proz. Ammoniumsulfitlösung und mit 2proz. Harnstofflösung.

1. Behandlung mit Ammoniumsulfitlösung.

Das Buchenholz (100 g) wurde in gleicher Weise wie oben viermal mit je 1 Liter 0,13proz. Chlordioxyd behandelt. Dann erfolgt eine wechselweise Behandlung mit Chlordioxyd und 2proz. Ammoniumsulfitlösung. Zur Ammoniumsulfitbehandlung kommt das Material in 1 Liter dieser Lösung und wird darinnen 1½ Stunden bei 50° auf dem Wasserbad erwärmt. Die Flüssigkeit riecht deutlich nach Ammoniak. Äußerlich lassen sich dieselben Erscheinungen feststellen wie beim Natriumsulfit. Im ganzen sind 6 Ammonium-

sulfitaufschlüsse notwendig bis das Material beim Lagerversuch Chlordioxydstabilität ergibt, also fünf Sulfitaufschlüsse weniger als beim Natriumsulfit. Doch das Material scheint erheblich stärker angegriffen worden zu sein, denn die Säuretitration ergab nur noch 7,0% Säure. Das Ammoniumsulfit scheint also in diesem Falle, obwohl es ungefähr das gleiche p_H wie Natriumsulfit in der Kälte besitzt, in der Wärme die Zellmembran stärker angegriffen zu haben wie dieses.

Ein Versuch mit einem Material (Adlerfarn), das gegen Natriumsulfit stabil ist, ergab gegen Ammoniumsulfit eine Abnahme.

Einwage	0,3062 g
Abnahme in g:	0,0111 g
„ „ %:	3,62%.

2. Behandlung mit Harnstofflösung.

In gleicher Weise wie bei 1., nur statt mit Ammoniumsulfitlösung wurde hier das Material mit 2proz. Harnstofflösung behandelt. Sehr bald allerdings zeigte sich, daß die Alkalität auch in der Wärme zu gering war, um unter einigermaßen günstigen Bedingungen einen Aufschluß durchführen zu können. Der Versuch wurde deshalb abgebrochen.

II.

Die Isolation einer polymeren Säure aus der Skelettsubstanz der Rotbuche.

Die Skelettsubstanz der Buche (Fagus silvatica) besteht aus drei Teilen, nämlich der Cellulose einer polymeren Säure und dem Xylan. Es erweist sich hier die Hemicellulose also, im Gegensatz zu den Hemicellulosen des Flachses, als hexosenfrei. Mithin ist nur ein monomerer Zucker (Xylose) am Aufbau der Hemicellulosen beteiligt. Damit liegen aber für die Konstitutionsaufklärung der Skelettsubstanz der Buche wesentlich einfachere Verhältnisse vor. Als Grundlage für die Isolierung und präparative Darstellung der Säure diente nun folgender Versuch. Es konnte nämlich auf Grund der Theorie von der Esternatur der Skelettsubstanz durch eine neugeschaffene Säurebestimmungsmethode festgestellt werden, daß die Skelettsubstanz bereits mit n/10 Alkali im Laufe einer Stunde quantitativ verseift wird. Bei diesem Vorgang geht die polymere Säure als Natriumsalz in Lösung, während ein säurefreier Bodenkörper, der nunmehr aus Cellulose und Xylan besteht, zurückbleibt. Auf diesen Bodenkörper wirkt auch weitere n/10 Natronlauge nicht mehr gewichtsvermindernd ein. Bemerkt sei, daß erst durch Einwirkung von 5proz. Lauge das Xylan wahrscheinlich unter Alkoholatbildung in Lösung geht. Somit läßt sich durch verschiedene Laugenkonzentration eine fraktionierte Isolierung der Skelettsubstanzbestandteile durchführen. Zusammenfassend können wir also sagen, mit n/10 Lauge gelingt es die Säure, mit 5proz. Lauge das Xylan, aus der Skelettsubstanz herauszuholen, während die Cellulose als in der Lauge unlöslich hinterbleibt. Diese Methode wird nun die Möglichkeit geben auf analytischem Wege die stöchiometrischen Verhältnisse der am Aufbau der Skelettsubstanz beteiligten Kolloide festzustellen. Aus der n/10 Lauge läßt sich nach der Extraktion durch Ansäuern und Zugabe von Alkohol die polymere Säure als ein wasserlösliches, schneeweißes Produkt isolieren. Es ist nicht anzunehmen, daß nach diesem Verfahren

durch n/10 Lauge bei gewöhnlicher Temperatur irgendwelche Veränderungen des Kolloids hinsichtlich seiner chemischen Zusammensetzung durch Hydrolyse eingetreten sind. Dies ist umso weniger anzunehmen, als die in den Kohlehydraten vorhandenen glycosidischen Bindungen alkalistabil sind. Auf Grund der Löslichkeitseigenschaften der isolierten Säure muß man also wohl annehmen, daß sie sich mit der Cellulose einerseits und den Hemicellulosen andererseits in der Skelettsubstanz in chemischer Bindung befunden haben muß. Bedenkt man ferner, daß die Cellulose und das Xylan als Alkohole aufzufassen sind, so scheint die Annahme von der Esternatur der Skelettsubstanz bewiesen. — Für die Annahme, daß die Säure das Bindeglied zwischen Cellulose und Hemicellulosen bildet, glauben wir in den folgenden Tatsachen eine beweiskräftige Stütze zu haben.

Im Falle der Buche stimmen die Werte der Säuretitration mit n/10 Lauge mit den Werten, die wir bei der Behandlung mit n/10 Lauge auf gravimetrischem Wege bekommen, genau überein. Wir entnehmen daraus, daß die Säure esterartig gebunden sein muß. Darüber aber, ob diese Bindung gegen Cellulose und Hemicellulosen stattfindet, oder nur gegen eine der beiden Komponenten, läßt sich noch nicht entscheiden. Hier kommt uns nun ein Versuch mit der Skelettsubstanz der Fichte zu Hilfe. Auch bei der Fichte wurde eine titrimetrische Messung der Säure und eine quantitative Extraktion mit n/10 Natronlauge vorgenommen. Und hier zeigt sich nun, daß zwar titrimetrisch ein Säurewert erhalten wird, während gravimetrisch keine Abnahme erfolgt. Dieser Befund besagt uns, daß die Säure hier an eine Komponente und zwar an die Hemicellulosen fester als durch Veresterung gebunden ist. Es kann sich wohl nur um eine glycosidische Bindung handeln, da diese gegen Alkali ja stabil ist. Damit ist also erklärt, warum die Säure nicht in Lösung geht, da sie mit den in n/10 Alkali unlöslichen Hemicellulosen einen Komplex bildet. Daß diese gegen Alkali stabile Bindung an die Hemicellulosen erfolgt ist, entnehmen wir der Tatsache, daß die Säure mit den Hemicellulosen, die mit 5 proz. Alkali unter Alkoholatbildung in Lösung gehen, gleichzeitig von der Cellulose getrennt wird. Aus dem titrimetrischen Wert dagegen ersehen wir, daß durch n/10 Alkali bereits ein Bloßlegen der Carboxylgruppen erfolgte. Da aber andererseits eine Isolierung der Säure nicht möglich ist und da ferner die Säure gleichzeitig mit den Hemicellulosen in Lösung geht, so ist es naheliegend, daß die zweifellos vorliegende esterartige Bindung hier nur an die Cellulose erfolgt ist.

Die präparative Isolierung einer polymeren Säure.

1. Versuch:

Als Ansatz werden 390 g des feuchten Materials der Buche (= 98 g Trockenmaterial), dessen Aufschluß auf Seite 14 beschrieben ist, genommen. Diese Menge wird in 1 Liter n/10 Natronlauge eingetragen. Sofort tritt eine deutliche Braunfärbung von Material und Flüssigkeit auf. Unter häufigem Umschütteln lassen wir sie ungefähr 24 Stunden stehen. Die alkalische Reaktion ist nun nur noch sehr schwach. Es wird auf der Nutsche durch ein Leinentuch abgegossen und ohne Auswaschen mit der Hand fest abgepreßt. Das leicht bräunliche Material kommt von neuem in 1 Liter n/10 Natronlauge und bleibt abermals 24 Stunden stehen.

Die Flüssigkeit wird nun in einem Schüttelzylinder mit Salzsäure neutralisiert und mit der doppelten Menge an 96proz. Alkohol und etwas Äther versetzt. Sofort scheiden sich voluminöse, gallertartige Flocken aus, die in der ganzen Schichthöhe der Flüssigkeit verteilt sind und nur ein sehr geringes Bestreben zeigen, sich abzusetzen. Wir saugen deshalb nach drei Stunden durch ein Leinentuch bei geringem Vakuum ab und waschen einmal mit Alkohol aus. Dann wurde das Material in eine Soxhlethülse gegeben und damit ca. 48 Stunden in 96proz. Alkohol gestellt. Der Alkohol wurde während dieser Zeit einmal erneuert. Wir nahmen dann die Hülse aus dem Alkohol, ließen einige Zeit abtropfen und stellten dann zwei bis drei Stunden in Äther, um die Hauptmenge des Alkohols zu verdrängen, ehe im Extraktor 24 Stunden mit Äther in der Hitze extrahiert wurde. Das ätherfeuchte Material wurde darauf, auf einem Uhrglas zum Trocknen ausgebreitet, in den nicht evakuierten Exsikkator gestellt. Zum Schluß kam es noch eine Stunde bei 30° in den Trockenschrank. Die auf diesem Wege gewonnene trockene Substanz ist bräunlich, sehr hart, läßt sich also sehr schwer pulvern und reagiert neutral. Die Ausbeute von der ersten Laugenbehandlung betrug 6,85 g. das Material der zweiten Behandlung, das auf dieselbe Weise gewonnen war, wog 2,13 g. Das Filtrat einer dritten Laugenbehandlung gab keine Säurefällung mehr. Die Gesamtausbeute aus den 98 g Skelettsubstanz ist also 8,98 g — 0,467 g Asche = 8,513 g Säure = 8,7% Ausbeute. Die Naphtoresorcinreaktion ergibt einen positiven Ausfall. Die Wasserlöslichkeit ist beträchtlich. Aus dem restlichen, säurefreien Material können mit 5proz. Lauge die Hemicellulosen gefällt werden, die dann auf die bekannte Weise weiter verarbeitet werden. Diese Methode hat nun scheinbar bedeutende Mängel. Denn erstens

liefert sie die Säure in unschönem braunen Zustand und zweitens gestattet sie nicht die Säure quantitativ zu erfassen. Es wird also vor allem jedes Behandeln in der Wärme (Exsikkator und Trockenschrank) auszuschalten sein, da wir vermuten, daß die Wärme Laktonbildung veranlaßt.

Zu einem zweiten Versuch wird nun Skelettsubstanz aus dem Alkohol genommen und dieser mit Wasser verdrängt. Das feuchte mit der Hand abgepreßte Material wiegt 580 g, das sind 142 g Trockengewicht. Ein Drittel (also rund 50 g) wird zu einem Vorversuch verwendet.

Vorversuch zu Versuch II:

Das Material kommt in $^1/_2$ Liter n/10 Natronlauge wie bei Versuch 1. Geändert wurde lediglich das Fällen und Aufarbeiten der Säure. Das Filtrat wird diesmal mit Salzsäure stark angesäuert. Dabei fällt bereits etwas polymere Säure aus; diese Fällung ist aber nicht vollständig, sondern muß erst durch Alkohol ergänzt werden. Es muß auch wegen technischer Schwierigkeiten darauf verzichtet werden, das mit Säure gefällte Produkt gesondert zu isolieren. Die Fällung, die zum besseren Absetzen einige Stunden in Eis-Kochsalz-Kältemischung gestellt wird, wird wie bei Versuch I durch ein Leinentuch abgesaugt. Diese Operation dauert mehrere Stunden, da durch die kolloidalen Teilchen die Tuchporen bald verstopft sind und eine dichte Gallertschicht die Filterbodenfläche bedeckt. Aus diesem Grund wird natürlich auf ein vollständiges Absaugen verzichtet. Nachdem das ganze Material in der Nutsche auf dem Filtertuch ist, wird dieses zum Beutel zusammengebunden und in Alkohol gehängt. Wir vermeiden auf diese Weise die Soxhlethülsen, aus denen das Material nie quantitativ entfernt werden kann, ohne es mit Filterfasern von der Hülse zu verunreinigen. Der Leinenbeutel mit Material bleibt 48 Stunden in Alkohol hängen, der während dieser Zeit dreimal erneuert wird. Dann kommt der Beutel heraus und kommt 36 Stunden in Äther. Nach dieser Zeit wird das Material auf ein Uhrglas übergeführt und im evakuierten Exsikkator getrocknet. Das Produkt ist bedeutend weißer als die Darstellung von Versuch I und läßt sich leicht pulvern. Es gibt keine Chloridreaktion mehr und reagiert deutlich sauer. Die Ausbeute der ersten Fällung betrug 3,02 g, der zweiten Fällung 1,0 g, also insgesamt 4,02 g Säure = 11,7% Ausbeute,

II. Versuch.

Auf diesen Vorversuch folgt nun der Hauptversuch mit den restlichen 100 g. Hier soll nun die Säureisolation in endgültiger

Weise festgelegt werden. Die Extraktion mit Lauge ist unverändert geblieben. Die Fällung der Säure aus den Filtraten und ihre Trocknung erfolgte auf folgende Weise.

Die Filtrate werden neutralisiert und dann mit Salzsäure leicht angesäuert. Aus dieser salzsauren Lösung wird nun die Säure mit der doppelten Menge an 96proz. Alkohol und mit etwas Äther gefällt. Die Fällung wird sofort in eine Kältemischung (Eis-Kochsalz) zur Ausflockung der Kolloide gestellt. Nach einigen Stunden hat sich die voluminöse Gallerte etwas abgesetzt, sodaß die Hauptmenge des Alkohols abdekantiert werden kann. Dann wird in eine Nutsche auf ein Leinentuch abgegossen und bei nur mäßigem Saugen ein Teil der Flüssigkeit abfiltriert. Das Tuch wird zum Beutel gebunden und so mit der Substanz in absoluten Alkohol gehängt. Der Alkohol hat, speziell zu Anfang, oft erneuert zu werden.

Diese Alkoholdialyse wird so lange fortgesetzt, bis weder der abgegossene Alkohol noch die Substanz Chloridreaktion geben. Ist das erreicht, so wird in frisch destillierten Äther gehängt und durch öfteres Erneuern desselben der Alkohol ganz verdrängt. Nach einigen Tagen kann dann die Säure aus dem Leinenbeutel auf ein Uhrglas übergeführt werden und in den Exsikkator zur Trocknung im Vakuum kommen.

Ausbeute: 5 g; Drehungswinkel: — 52,6°; Naphtoresorcinreaktion: positiv.

III.

Anwendung der Adsorptionsmethode in der Zellmembranforschung.

Einleitung.

Das wesentlichste Ergebnis der Untersuchungen von E. SCHMIDT und Mitarbeitern besteht darin, daß die in der Zellwand bisher als einheitliche Gruppe aufgefaßten Hemicellulosen in mindestens zwei Teile zu zerlegen sind. Von diesen ist der eine vermittelst hochmolekularer Säuren sicher an Cellulose geknüpft, der andere Teil aber befindet sich sehr wahrscheinlich mit den inkrustierenden Substanzen in chemischer Bindung. Die an die Cellulose gebundenen Hemicellulosen bilden einen analytisch wohldefinierten Membranbestandteil.

Im allgemeinen sind diese Hemicellulosen nicht aus einheitlichen monomeren Kohlehydraten aufgebaut. Vielmehr können sie aus mindestens drei Zuckern, nämlich Xylose, Mannose und Glycose bestehen. Die an die Cellulose gebundenen Hemicellulosen lassen sich unter dem Einfluß von Alkali in lösliche Form überführen, aus der sie durch Alkohol und Säure als weiße amorphe Substanz gewonnen werden können. In vielen Fällen zeigen diese Hemicellulosen die gleichen Löslichkeitseigenschaften, wie in der Verbindung mit Cellulose. In anderen Fällen erweisen sich die abgespaltenen Hemicellulosen als wasserlöslich, während sie im Verband der Cellulose noch wasserunlöslich waren.

Solche wasserlöslichen Hemicellulosen finden sich z. B. in der Zellmembran von Flachs (Linum usitatissimum). Und diese stellen auf Grund ihrer Wasserlöslichkeit ein wichtiges Ausgangsmaterial dar, um entscheiden zu können, ob wir es in diesem Falle mit einem einheitlichen Stoff zu tun haben oder aber ob ein Gemisch verschiedenartiger polymerer Kohlehydrate vorliegt. Mit anderen Worten, hier können wir, was mit den bisherigen Methoden der Hydrolyse nicht möglich war, entscheiden, ob die Xylose als polymere Anhydroxylose (Xylan) neben einer polymeren Anhydroglycose

bezw. Anhydromannose als selbständige Bausteine vorliegen oder ob es sich um Gemische einer polymeren Anhydroglycosido- bezw. polymeren Anhydromannosidoxylose handelt.

Der Beweis einer solchen Anschauung verlangt neue Arbeitsmethoden, denn die monomeren Spaltstücke von Gemischen hochmolekularer Substanzen auf dem bisher üblichen Wege der Hydrolyse dargestellt, lassen keine zwingenden Schlußfolgerungen über Konstitutionsverhältnisse an Kolloiden zu, noch viel weniger, wenn es sich um Gemische von Kolloiden handelt. Die präparativen und analytischen Methoden müssen daher derartige sein, daß zwar die Kolloide getrennt, aber die kolloidalen Einzelgebilde in ihrer chemischen Struktur nicht verändert werden. Da im vorliegenden Fall die an die Cellulose gebundenen Hemicellulosen analytisch nicht differenziert sind, mußten andersartige Methoden angewandt werden. Im folgenden ist der Versuch gemacht worden, die Adsorptionsmethode auf ihre Brauchbarkeit zur Lösung der oben angedeuteten Fragen zu untersuchen.

Geschichtliches.

Zur gleichen Zeit als die klassische Chemie jene gewaltigen Erfolge auf technischem und wirtschaftlichem Gebiet zu verzeichnen hatte, also ungefähr Ende des vorigen, Anfang dieses Jahrhunderts, begann eine systematische Durchforschung der chemischen Probleme der Biologie. E. FISCHER, R. WILLSTÄTTER, BUCHNER und H. v. EULER sind nur einige von den Namen, die diese biochemische Richtung vertreten. Hier auf diesem jungen Gebiet, das rasch das Interesse weitester Kreise der Wissenschaft errang, lagen nun die Verhältnisse ganz wesentlich anders, als bei der klassischen Chemie. Die bewährten Methoden der Kristallisation und Destillation waren nur mehr beschränkt anwendbar. Es war notwendig neue Arbeitsmethoden zu schaffen, die diesen amorphen, gallertartigen, in jeder Beziehung widerspenstigen Stoffen zu Leibe gehen konnten.

So ist aus den Bedürfnissen der Enzymchemie eine Ausbildung der Adsorptionserscheinungen zu analytischen und präparativen Zwecken entstanden. Die erste Untersuchung über Enzymadsorption wurde im Jahre 1861 von E. BRÜCKE angestellt.[1] COHNHEIM, HAMMARSTEN und andere Forscher versuchten sich mit mehr oder weniger Erfolg auf diesem Gebiete. Die Arbeiten

[1] Zur Geschichte der Adsorption von Enzymen, siehe: R. WILLSTÄTTER, Über Enzymisolierung. B. 55, 3611 (192).

von MICHAELIS und EHRENREICH gaben neue Anregungen, die die Entwicklung der Adsorptionsmethoden förderten.[1] Doch diese Forscher beschränken sich nur auf die Adsorptionsanalyse und sind noch nicht in der Lage den adsorbierten Stoff wieder vom Adsorbens zu nehmen. Es blieb R. WILLSTÄTTER vorbehalten am Beispiel der Peroxydase die Adsorption für präparative Zwecke zur Reinigung der Enzyme einzuführen und sie zusammen mit seinen Mitarbeitern zur heute erfolgreichsten Enzymreinigungsmethode auszuarbeiten. WILLSTÄTTERs entscheidende Tat auf diesem Gebiet war die Einführung der Elution, die es gestattet den adsorbierten Körper ganz oder teilweise wieder vom Adsorbens zu nehmen.

H. KRAUT hat die Erscheinungen der Enzymadsorption einer speziellen Untersuchung unterworfen und gelehrt aus der Adsorptionskurve Schlüsse auf den Stoff und seine weitere Adsorbierbarkeit zu ziehen. Auch hat er die Adsorptionsmethode von den Enzymen erstmalig auf einen anderen hochmolekularen Stoff, den Hefegummi, übertragen.

Problemstellung.

In der vorliegenden Arbeit ist nun der Versuch gemacht, diese von der WILLSTÄTTER-Schule ausgearbeitete Adsorptionsmethode für das Gebiet der Zellmembranforschung dienstbar zu machen. Durch die Gärungsmethode[2] ist es in jüngster Zeit E. SCHMIDT und F. TREFZ gelungen auf dem Gebiet der Hemicellulosen einige Aufklärungen zu schaffen. Allerdings ist es auf diesem Wege nicht möglich eine allgemeine Charakteristik der Hemicellulosen, „jener vielgestaltigen Polysaccharide, die zwar in ihrer Molekelgröße noch nicht erkannt, untereinander jedoch sehr ähnlich sind, sodaß sie einer Trennung, Unterscheidung und der Reindarstellung streng charakterisierter Einzelindividuen großen Widerstand entgegensetzen“[3] zu geben oder gar eine Trennung der einzelnen Komponenten durchzuführen.

---

[1] MICHAELIS, Die Adsorptionsaffinitäten des Hefeinvertins, Biochem. Zeitschrift **7**. 488 (1908).
MICHAELIS und EHRENREICH, Adsorptionsanalyse der Fermente. Biochem. Zeitschr. **10**, 283 (1908) und **12**, 26 (1908).
MICHAELIS, Elektrische Überführung von Fermenten. Biochem. Zeitschrift **16**, 81 (1909).

[2] E. SCHMIDT und F. TREFZ, Zur Kenntnis der Zellmembran der Fichte. B. **59**, 2642 (1926).

[3] F. FÖCKERER, Promotionsarbeit, Universität München 1926.

Die Problemstellung für die Adsorptionsversuche war also folgende:

1. Ist es möglich durch Adsorption festzustellen, ob ein Gemisch oder ein einheitlicher Stoff vorliegt?
2. Ist im Fall eines Gemisches eine Trennung der einzelnen Komponenten durchführbar?

Theoretische Betrachtung zur Adsorption von Hemicellulosen.

Die Verhältnisse sind hier komplizierter als in der Enzymchemie. Während bei den Enzymen die Steigerung der Wirksamkeit einer gewissen Probemenge die Erhöhung der enzymatischen Konzentration und somit die fortschreitende Reinigung des Enzyms anzeigt, macht in der Kohlehydratchemie der Mangel empfindlicher spezifischer Reaktionen eine derartige Kontrolle unmöglich. Die einzige hier in Frage kommende Untersuchungsmethode ist die Polarisation. Doch hat sich bei der vorliegenden Arbeit gezeigt, daß die kolloidale Eigenschaft der Lösungen und die geringe Konzentration die jeweilige Feststellung eines Drehungswinkels unmöglich machten.

Adsorptionsmittel:

Im Prinzip findet an der Grenzfläche von zwei Phasen stets eine Dichteänderung statt, die gemeinhin als Adsorption bezeichnet wird. Es ist hier gleich zu unterscheiden zwischen Adsorption und Absorption. Als Absorption ist die Lösung von Gasen in Flüssigkeiten und bei festen Körpern die Diffusion des gelösten Stoffes in das Innere des Adsorbens zu verstehen. Adsorption hingegen ist lediglich eine Oberflächenerscheinung. Daraus ergibt sich, daß die Oberflächenentwicklung eines Körpers ausschlaggebend ist für seine Fähigkeit andere Stoffe zu adsorbieren. Kristallisierte Körper können danach als Adsorbentien praktisch nicht in Betracht kommen. Ein gutes schon lange bekanntes Adsorptionsmittel ist die Kohle (organischen Ursprungs), die infolge ihrer großen Oberfläche in der Zuckerchemie zu Reinigungszwecken mittels Adsorption viel verwandt wird. Für quantitative und präparative Adsorptionsversuche kommt sie aber nicht in Betracht, da es bisher noch nicht gelungen ist ein für Kohle geeignetes Elutionsmittel zu finden. Es kommen als Adsorbentien hauptsächlich Kieselgur, Kaolin, Tonerde, Eisenhydroxyd und Zinnsäure in Betracht. Darüber hinaus finden noch eine Menge anderer Stoffe natürlicher und künstlicher Herkunft mit großer Oberfläche für spezielle Zwecke als Adsorbentien

Anwendung. So gibt H. KRAUT[1] z. B. für Invertin: Wolle, Seide, Baumwolle und Zellstoff als wirksam an. In dieserArbeit ist hauptsächlich das künstlich hergestellte Aluminiumhydroxyd verwendet worden. Die künstlich hergestellten Hydrogele haben durch ihren kolloiden Charakter eine weit größere Oberfläche als die natürlichen.

Nach den Untersuchungen von R. WILLSTÄTTER u. H. KRAUT[2] sind die Zusammenhänge der einzelnen Darstellungsprodukte von Tonerde ziemlich komplizierter Natur. Es hat sich gezeigt, daß die Wirksamkeit der einzelnen Präparate in keinem einfachen Zusammenhang zur Dispersität der Hydrogele steht. Nach den beiden oben genannten Forschern unterscheidet man heute ein Orthohydroxyd α, β, γ, ferner ein Polyhydroxyd B und A und ein Metahydroxyd. Es ist zu vermuten, daß es sich hier um verschiedene chemische Verbindungen, nämlich um verschiedene Aluminiumoxydhydrate handelt. Diese sämtlichen Hydroxyde sind aus einer Aluminiumsulfatlösung und Ammoniak entstanden. Je nach der Konzentration des Ammoniaks und den Bedingungen der Fällung erhält man die einzelnen Sorten. So läßt sich die Zusammensetzung des Orthohydroxyds nur erreichen, wenn die Hydroxylionenkonzentration des Reaktionsgemisches durch Zusatz eines Puffers noch weiter herabgesetzt wird, z. B. durch Zusatz von Ammonsulfat. Die Polyhydroxyde B und A werden durch einen Überschuß an 15proz. Ammoniak gefällt (B) und zur Herstellung von Sorte A noch 48 Stunden mit der Mutterlauge zum Sieden erhitzt.[3] Alle drei Sorten sind typische Hydrogele.

Die Adsorption von Gemischen.

Im quantitativen Adsorptionsversuch stellt man eine Beziehung auf zwischen dem an das Adsorbens gegangenen Stoff und dem in der Restlösung verbliebenen. Für die Konzentration am Ad-

---

[1] H. KRAUT und E. WENZEL, Über Enzymadsorption, II, Zeitschr. für physiol. Chemie **142**, 71 (1925).

[2] In den Berichten der Deutschen Chem. Ges. sind folgende Abhandlungen von R. WILLSTÄTTER und Mitarbeitern über Hydroxyle und Hydrogele veröffentlicht: Zur Kenntnis der Tonerdehydrate (I. Mitteil. über Hydroxyde und Hydrogele) B. **56**, 149 (1923); Über ein Tonerdegel von der Formel $Al(OH)_8$ (II) B. **56**, 1117 (1923); Über wasserarme Tonerdehydrate (III) B. **57**, 58 (1924); Zur Kenntnis der Zinnsäuren (IV) B. **57**, 63 (1924); Über Hydroxyde und ihre Hydrate in den verschiedenen Tonerdegelen (V) B. **57**, 1082 (1924); Die einfachsten Zinnsäuren (VI) B. **57**. 1491 (1924).

[3] H. KRAUT, Untersuchungen über die Adsorption von Enzymen und anderen hochmolekularen Stoffen. Habilitationsschrift, München 1925, S. 20.

sorbens ist als Maß der Adsorptionswert eingeführt, der in der IV. Abhandlung zur Kenntnis des Invertins seine folgende endgültige Fassung erhielt:[1] Der Adsorptionswert (A.W.) ist diejenige Menge des Adsorbendums [ausgedrückt bei Enzymen in Enzymeinheiten, bei bekannten Stoffen in Gramm], welche von 1 g des Adsorbens aufgenommen wird. Zur Aufstellung einer Kurve werden nun die Adsorptionswerte als Ordinaten, die Konzentrationen der Restlösung als Abscissen aufgetragen. Liegt ein einheitlicher reiner Stoff vor, so findet das Verhältnis der beiden Größen seinen Ausdruck in der normalen Freundlichschen Adsorptionsisotherme.[2] Das Gesetz dieser Beziehungen wurde von Freundlich empirisch ermittelt und läßt sich mathematisch durch folgende Gleichung ausdrücken:

$$A.W. = \alpha \cdot c^{\frac{1}{n}}$$

α und n sind Konstante und n ist stets $= 1$.

Daß dieses Gesetz auch für die Enzyme gilt, wurde nur vermutet, da ein Nachprüfen bei der Unzugänglichkeit eines reinen Enzyms nicht möglich war. Auch für die vorliegende Arbeit ist eine Nachprüfung nicht erfolgt. Wesentlich anders sieht nun die Kurve eines Gemisches aus. Je nach Art und Menge des Begleitstoffes weicht sie mehr oder weniger von der normalen Isotherme ab. Abgesehen von einer spezifischen Neigung des einen oder anderen Stoffes werden alle Stoffe durch die Konzentration, in der sie sich im Augenblick der Adsorption befinden, beeinflußt. Und zwar ist es möglich, daß während der Adsorption ein Stoff aus bevorzugter Konzentration in benachteiligte gelangt, also gegenüber der anderen Komponente schlechter adsorbierbar ist und umgekehrt. Daraus ergibt sich, daß man die Adsorption so leiten

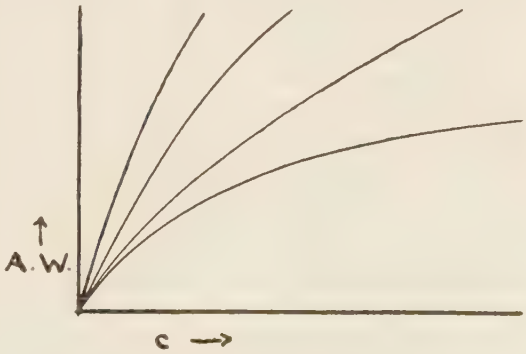


Fig. 1a.

Verlauf von normalen Adsorptionsisothermen mit verschiedenen Werten von n.

[1] R. WILLSTÄTTER und WASSERMANN, IV. Abhandl. zur Kenntnis des Invertins. Zeitschr. für physiol. Chemie **123**, 182 (1922).

[2] H. FREUNDLICH, Kapillarchemie, 2. Aufl., Leipzig 1922, 232 ff,

muß, daß ein Stoff in bevorzugte Konzentration gelangt. Diese Anreicherung eines Stoffes läßt sich aus der jeweiligen Kurve ohne weiteres ersehen. Eluiert man dann das Aluminiumhydroxyd, an dem sich der Stoff in bevorzugter Konzentration befindet, so kann es sein, daß dieser zuerst eluiert wird, während die Verunreinigung dann in der Hauptsache an der Oberfläche zurückbleibt, wodurch eine weitere Reinigung erfolgt. Es ist aber auch andererseits möglich, daß ein Stoff in der Restlösung angereichert ist. Adsorbiert man diese Lösung nochmals, so geht in erster Linie der Stoff in bevorzugter Konzentration an das Adsorbens, er wird also auch in diesem Falle angereichert. Durch geschickt geleitete wechselweise Elution und Adsorption kann in diesen beiden Fällen eine möglichste Annäherung an die normale Adsorptionsisotherme erreicht werden, d. h. man kann so zu einem möglichst reinen Stoff gelangen. Bei den folgenden Untersuchungen hat die Kurve von Fig. 3 das Vorhandensein eines sehr gut adsorbierten Stoffes gezeigt. Durch Voradsorption nehmen wir diesen so weit als möglich heraus. Der Rest geht in benachteiligte Konzentration über und erlangt keine Bedeutung mehr für unsere Kurven. Durch weitere Versuche (Fig. 4 u. 5) wird dann der günstigste Punkt für die Hauptadsorption ermittelt. Diese hat den Zweck einen

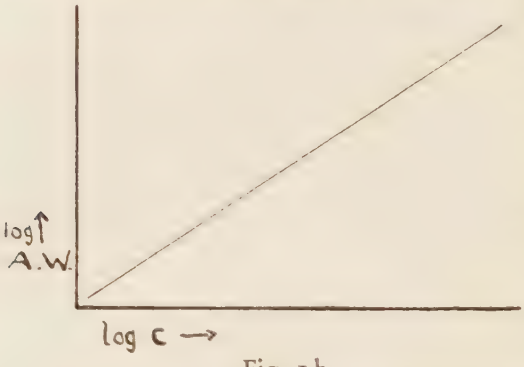


Fig. 1 b.

Logarithmierte normale Adsorptionsisotherme.

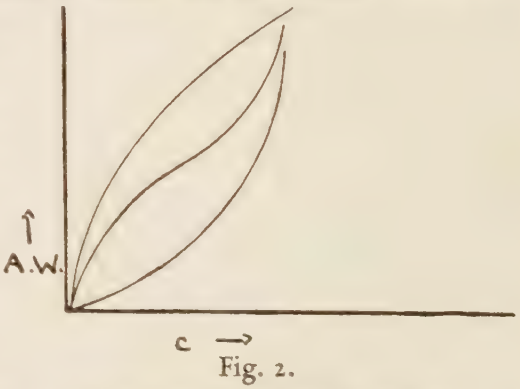


Fig. 2.

Adsorptionsisotherme von Gemischen.

Stoff in begünstigster Konzentration am Adsorbens niederzuschlagen, der dann durch nachfolgende Elution weiter angereichert wird.

Die Elution beruht auf der Verwandlung des Adsorbens in eine Verbindung von geringerer Adsorptionsfähigkeit oder in der Besetzung eines Teiles der Oberfläche. Durch die richtige Kombination dieser Operationen oder auch durch die Kombination mit anderen Adsorptionsmitteln läßt sich so eine weitgehendste Fraktionierung erreichen, die auf anderem Wege niemals möglich wäre.

Gibt die Kurve das Bild eines reinen Stoffes, so ist es geboten durch Verwendung eines anderen Adsorbens diese Kurve zu kontrollieren. Trotzdem kann es, wie R. WILLSTÄTTER und K. SCHNEIDER[1] betonen, möglich sein, daß die Verbindung eines Stoffes mit einem Koadsorbens als einheitlicher Komplex an das Adsorbens geht und dadurch in der Adsorptionsisotherme einen einheitlichen Stoff vortäuscht.

Adsorptionsversuche an Hemicellulosen.

Herstellung der Lösung des Adsorbendums:

Als Adsorbendum wurden die Hemicellulosen (H_S) von Flachs (Linum usitatissimum) verwendet. Bestimmend für die Wahl dieses Materials war erstens das Vorhandensein einer größeren Menge dieser aus der Skelettsubstanz mit 5 proz. Natronlauge abgespaltenen Hemicellulosen, zweitens die bedeutende Wasserlöslichkeit, die dieses Material zeigte, und drittens, weil dieses Material Hexosan enthält. Die von E. SCHMIDT und F. TREFZ für eindeutige quantitative Bestimmungen ausgearbeitete Gärungsmethode[2] gibt uns einen ungefähren Aufschluß über die hier vorliegenden Mengenverhältnisse. Danach sind etwa 23 proz. Hexosan vorhanden, an deren Aufbau sicher Galaktose nicht beteiligt ist. Der Rest besteht in der Hauptsache aus Pentosen. Ein Nachteil, den dieses Material zeigte, ist, daß es noch eine hochmolekulare Säure enthält, die für die folgenden Adsorptionsversuche eine nicht gerade gewünschte Verunreinigung bildete. Doch ist aus der vorhergehenden Arbeit über die Isolation der Säure[3] zu erkennen, daß es nunmehr möglich sein wird, die Hemicellulosen mühelos säurefrei zu erhalten. Damit steht für die Adsorptionsversuche ein reines Material zur Verfügung. Wie sehr das erwünscht ist, lassen die einzelnen Versuche erkennen.

Zur Bereitung der Versuchslösung wurde stets die entsprechende Menge der Hemicellulosen in destilliertes Wasser gegeben und

[1] R. WILLSTÄTTER und K. SCHNEIDER, Zur Kenntnis des Invertins. VIII. Abhandlung über Invertin, Zeitschrift für physiol. Chem. 142, 257 (1925).
[2] B. **59**, 2642 (1926). [3] Siehe Seite 17.

über Nacht bei 30° im Thermostaten stehen gelassen. Am anderen Morgen war dann alles gelöst. Allerdings war die Lösung nie molekulardispers, sondern eine Suspension feinster Partikelchen (Verunreinigung durch Filterfasern und ähnliches) und deshalb sehr stark getrübt. Diese Trübung war natürlich nach der ersten Adsorption sofort beseitigt. Man darf aber annehmen, daß der durch diese rein mechanische Filtration entstandene Fehler so gering ist, daß er den Adsorptionswert nicht merkbar fälscht. Auch wird diese Filtration bei allen Versuchen (bis auf Fig. 3) durch die Voradsorption besorgt, sodass für die eigentlichen Bestimmungen immer klare Lösungen von kolloidalen Eigenschaften vorliegen. Von der Lösung wurden stets eine größere Menge (mindestens 500 ccm) hergestellt, um für eine möglichst große Anzahl von Versuchen die gleichen Anfangskonzentrationen zu haben. Zur Verhütung der Schimmelpilzbildung wurden die Lösungen unter Toluol aufbewahrt.

Das Adsorbens:

Die wesentlichsten Versuche der vorliegenden Arbeit sind mit Aluminiumhydroxyd als Adsorbens ausgeführt. Von den drei bereits kurz geschilderten gebräuchlichsten Aluminiumhydroxydpräparaten kam hier ausschließlich das Polyaluminiumhydroxyd „A" zur Verwendung. Die Vorschriften zur Herstellung der verschiedenen Tonerdehydrogele sind in ihrer endgültigen Fassung in der V. Mitteilung über Hydrate und Hydrogele mitgeteilt.[1] Es muß aber auch hier wieder festgestellt werden, was schon H. KRAUT ausdrücklich betont,[2] daß auch die genau nach diesen Methoden dargestellten Sorten zwar chemisch einheitlich, aber in der Teilchengröße nicht exakt genug reproduzierbar sind, als daß man verschiedene Präparate derselben Darstellung direkt vergleichen könnte.

Ich habe bei meinen Versuchen des öfteren Gelegenheit gehabt diese Tatsache bestätigt zu finden, da ich den Versuch gemacht habe eine ganz frisch dargestellte Tonerde mit einem älteren Präparat gleichzeitig zu verwenden. Obwohl die beiden Konzentrationen praktisch als gleich groß anzusprechen waren, ergaben sich bei der Aufstellung von Vergleichskurven doch meist nicht unbedeutende Differenzen, sodaß es mir nicht möglich war, beide Präparate nebeneinander zu verwenden. Es handelt sich hier um eine bei Kolloiden stets auftretende Alterungserscheinung, die auf der Oberflächenabnahme durch Teilchenwachstum beruht. Im folgenden

[1] B. **57**, 1082 (1924).
[2] H. KRAUT, Habilitationsschr., München 1925, S. 19

wurde also, soweit es sich um Tonerdeadsorptionen handelt, stets ein $1^1/_2$ Jahre altes Präparat „A" verwendet, das in 1 ccm 0,0273 g Al_2O_3 enthielt. Über das zum Schluß der Arbeit zur Anwendung gekommene Kaolin- und Ferrihydroxydpräparat wird später noch zu berichten sein.

Ausführung der Versuche:

Die Versuche, die zur Aufstellung einer Kurve nötig waren, wurden in 25 ccm-Meßkölbchen ausgeführt. Und zwar geschah das so, daß 20 ccm der zu adsorbierenden Lösung in das Kölbchen pipettiert wurden. Dann wurde das Adsorbens zugegeben und mit destilliertem Wasser auf 25 ccm aufgefüllt. Für die Ausführung quantitativer Adsorptionsversuche ist es nun unbedingt notwendig, daß die Oberfläche des Adsorbens stets gleich groß ist. Deshalb muß die Vorratssuspension des Aluminiumhydroxyds jedesmal vor der Benützung 1 Stunde auf der Maschine mit Glasperlen geschüttelt werden, so daß eine vollkommen homogene Emulsion entsteht.

Aber auch die Art der Zugabe des Aluminiumhydroxyds ist von wesentlicher Bedeutung. H. KRAUT sagt darüber folgendes:[1] „Dringend notwendig ist es zur Ausführung quantitativer Adsorptionsversuche, für eine gleichmässige Besetzung der Oberfläche Sorge zu tragen. Dazu muß das Adsorbens in jeder Versuchsreihe auf genau die gleiche Weise zugesetzt werden .... Die Differenzen der Adsorptionsaffinitäten sind nämlich oft so gering, daß die einmal erfolgte Adsorption durch spätere Zusätze nicht mehr zum völligen Gleichgewicht rückgängig gemacht werden kann." Wir gaben also zu den 20 ccm der Lösung des Adsorbendums in dem Kölbchen mit einer Meßpipette das Aluminiumhydroxyd und füllten sofort mit destilliertem Wasser bis zur Marke auf. Dann wurde kräftig umgeschüttelt, um das Aluminiumhydroxyd möglichst gleichmässig zu verteilen. Nach ca. 10 Minuten wurde hierauf von Aluminiumhydroxyd abzentrifugiert. Die Einhaltung einer einheitlichen Zeitspanne scheint hier unwesentlich, da ja nach den bisherigen Erfahrungen die Adsorption in den ersten Augenblicken stattfindet. Nach meiner Ansicht aber sind die Vorgänge hier noch viel zu wenig geklärt, so daß man keine sicheren Aussagen machen kann, ob eine Nachwirkung stattfindet oder nicht. Deshalb habe ich durch möglichste Einheitlichkeit bei den Versuchen Fehler auszuschalten versucht. Von den einzelnen Restlösungen werden nun Trockengewichte aufgestellt. Zu diesem Zweck werden 10 ccm der einzelnen Lösungen

[1] H. KRAUT, Habilitationsschr. München 1925 S. 31.

in je ein Porzellantiegelchen pipettiert und dann auf dem Wasserbad unter dem Schutztrichter bis zur Sirupkonsistenz verdampft. Dann kamen die Tiegel in den Trockenschrank von 70—80° auf Glasgestelle, sodaß sie gleichmässig von allen Seiten von Luft umspült wurden. Dadurch wird ein Braunwerden und Verbrennen am Boden verhindert. Nach dem vollkommenen Verdampfen der Flüssigkeit bleiben die Tiegel dann noch 1 Stunde im Trockenschrank, ehe sie zur Wägung kommen. Ein konstant Wägen ist unnötig, da nach allen dahin angestellten Versuchen das Gewicht auf die eben beschriebene Weise schon beim ersten Mal mit der nötigen Genauigkeit konstant erhalten wird. Dagegen ist ein Glühen und Zurückwägen der Tiegel unumgänglich nötig, weil in der Lösung immer noch Spuren Aluminiumhydroxyd suspendiert sind, die dann das Trockengewicht fälschlich erhöhen würden.

Versuch: Aufstellung einer Adsorptionskurve von unverändertem Material.

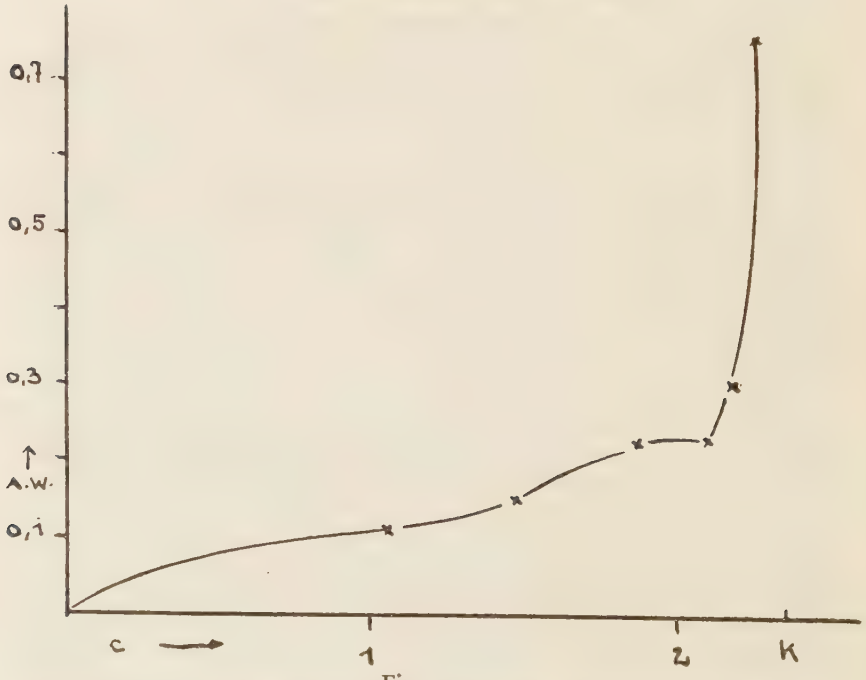


Fig. 3.
Adsorption unveränderter Hemicellulosen an Tonerde. K=Anfangskonzentration.

Angewandte Mengen		Vol. ccm	Adsorbierte Hemicellulosen in 25 ccm	A. W.	c g pro Liter
Hemicellulosen	g Al_2O_3				
0,05850	0,0027	25	0,0020	0,75	2,26
0,05850	0,0136	25	0,0040	0,30	2,18
0,05850	0,0273	25	0,0060	0,225	2,10
0,05850	0,0546	25	0,0125	0,225	1,84
0,05850	0,1365	25	0,0215	0,15	1,48
0,05850	0,2730	25	0,0315	0,11	1,08

Die Versuche wurden in der beschriebenen Weise ausgeführt.

In 1 Liter der Versuchslösung befanden sich 2,92 g Hemicellulosen. Die angewandten Al_2O_3-Mengen betrugen: 0,1 ccm, 0,5 ccm, 1,0 ccm, 2,0 ccm, 5,0 ccm und 10,0 ccm Al_2O_3. Die aus diesen sechs Punkten entstandene Kurve zeigt, daß von 1 ccm Adsorbens 11,5% eines einheitlichen Stoffes wegadsorbiert werden, und es war sofort zu vermuten, daß es sich hierbei um die Polyglykuronsäure handelt. Diese Vermutung wird dadurch besonders gestützt, daß wir voraussetzten, daß die Säure sich hier in gewöhnlich chemischem Sinn mit dem Aluminiumhydroxyd umsetzt. Der weitere Verlauf der Kurve entspricht dann noch durchaus einem Gemisch. Hier zeigt sich deutlich der störende Einfluß der Säure, denn es war nicht gelungen sie auf einmal herauszuadsorbieren. Die restliche Säure ist nun aber in benachteiligter Konzentration und verunreinigt so die Kurve in ihrem weiteren Verlauf.

Um den Beweis zu erbringen, daß es sich im ersten Teil der Kurve tatsächlich um die Säure handelt, wurde eine größere Menge der Lösung voradsorbiert (mit 1 ccm Al_2O_3 auf 20 ccm Lösung). Aus dem Aluminiumhydroxyd wurde dann die Säure eluiert und nachgewiesen. Der Ansatz betrug 240 ccm, enthaltend 0,7 g Hemicellulosen. Zur Voradsorption wurden verwandt 0,3276 g Aluminiumhydroxyd in 60 ccm destilliertem Wasser. Die 300 ccm Restlösung enthielten noch 0,6 g Hemicellulosen. Es ist also 0,1 g an das Adsorbens gegangen, d. i. 14,3 Proz. Demnach ist der A.W. = 0,305; c = 2,0.

Wir haben hier übrigens wieder eine Bestätigung für die schon oft beobachtete Erscheinung, daß die Adsorption im Großen etwas anders verläuft wie im kleinen Versuch. Das abzentrifugierte Aluminiumhydroxyd wird nun mit Diammonphosphat eluiert. Zur Elution wird die fünffache Menge des angewandten Aluminiumhydroxyds an Diammonphosphat in ca. 5 proz. Lösung verwandt. Auf

0,3276 g Aluminiumhydroxyd ergibt das also 1,6380 g Diammonphosphat in 32,76 ccm destilliertem Wasser. In der eluierten Lösung wird dann mit der Naphtoresorcinreaktion die Säure nachgewiesen. Die Reaktion fällt positiv aus, allerdings sehr schwach, was wir auf die starke Verdünnung der Lösung zurückführen. Es empfiehlt sich deshalb das Aluminiumhydroxyd nicht zu eluieren, sondern einen Teil sofort zur Reaktion zu verwenden. Man schüttelt die Probe im Reagensglas mit etwas konzentrierter Salzsäure, gibt dann die gleiche Menge destilliertes Wasser und etwas Naphtoresorcin zu und verfährt im übrigen genau wie sonst. Auf diese Weise bekamen wir einen eindeutigen positiven Ausfall des Versuches. — Die Restlösung der Voradsorption wird nun mit 4 ccm Al_2O_3 (auf 20 ccm) adsorbiert. Da bei Punkt 5 (Fig. 3) ein Knick auftrat, war es zweckmässig, an dieser Stelle die Adsorption abzubrechen und eine Kurve aus der Restlösung aufzunehmen.

Versuch:

Als Ansatz werden 200 ccm der voradsorbierten Lösung genommen, die 0,4 g Hemicellulosen enthalten. Die Adsorption wird mit 1,092 g Al_2O_3 in 50 ccm Wasser ausgeführt. Die 250 ccm Restlösung enthielten dann noch 0,275 g Hemicellulosen. Es sind also 0,125 g, d.i. 31,4% an das Aluminiumhydroxyd gegangen. Demnach ist der Adsorptionswert = 0,114; c = 1,10. Von dieser Restlösung wird nun mit 4 Punkten (1,0; 3,0; 5,0 und 10,0 ccm Al_2O_3) eine Kurve aufgestellt.

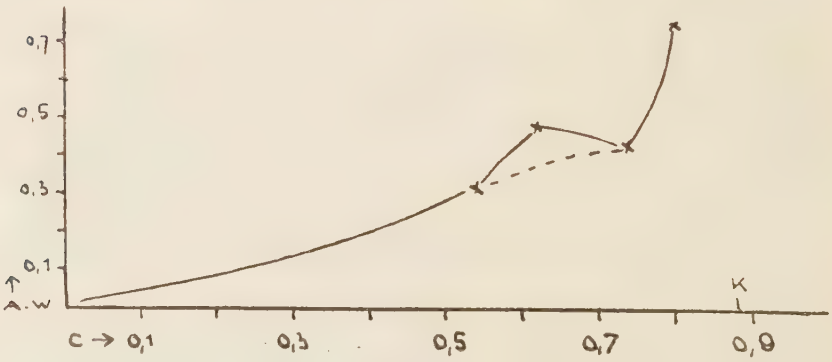


Fig. 4.

Kurve der Restlösung bei Punkt 5 in der Hauptkurve (Fig. 3).
K = Anfangskonzentration.

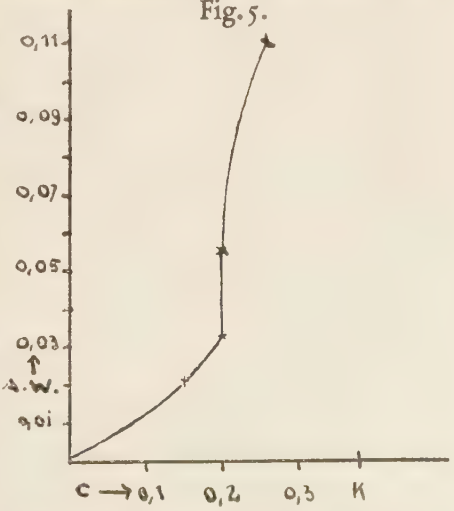
Angewandte Mengen		Vol. ccm	Adsorbierte Hemicellulosen in 25 ccm	A. W.	c g pro Liter
Hemicellulosen	g Al_2O_3				
0,0220	0,0273	25	0,0020	0,074	0,80
0,0220	0,0815	25	0,0035	0,043	0,74
0,0220	0,1365	25	0,0065	0,048	0,62
0,0220	0,2730	25	0,0085	0,031	0,54

Wir sehen nun folgendes: Die Adsorptionswerte sind sehr stark gefallen, und die Kurve zeigt immer noch das Bild eines Gemisches. Selbst wenn wir annehmen, dass Punkt 3 infolge eines Versuchfehlers ausfällt und die Kurve eigentlich den gestrichelten Verlauf hat, so ändert sich doch nichts Wesentliches. Der kleinste Zusatz von Adsorbens nimmt bei verhältnismässig hoher Restlösungskonzentration relativ am meisten Adsorbendum auf, dann fällt die Kurve rasch ab. Die A. W. - c - Kurve zeigt hier die vollkommen entgegengesetzte Krümmungstendenz, als wir sie bei der normalen Adsorptionsisotherme gewohnt sind. Dieser Kurvenpunkt (nämlich Punkt 5 von Fig. 3) kommt also für die Trennung des Gemisches keinesfalls in Frage. Wir untersuchen deshalb die Restlösung.

Versuch:

Zu diesem Zweck wird die obige Restlösung mit weiteren 5 ccm Al_2O_3 (auf 20 ccm) adsorbiert. Als Ansatz werden 100 ccm der Lösung genommen, die 0,11 g Hemicellulosen enthalten. Die Adsorption wird mit 0,6825 g Aluminiumhydroxyd in 25 ccm Wasser vorgenommen. Die 125 ccm Restlösung enthielten dann noch 0,0593 g Hemicellulosen, es sind also 0,0507 g, d. h. 46,1 % an das Aluminiumhydroxyd gegangen. Demnach ist der A. W. = 0,743; c = 0,475. Von dieser Restlösung wird nun abermals mit 4 Punkten (1,0; 3,0; 5,0; 10,0 ccm Al_2O_3) eine Kurve aufgestellt.

Fig. 5.



Kurve der Restlösung bei Punkt 6 in der Hauptkurve (Fig. 3). K=Anfangskonzentration.

Angewandte Mengen		Vol. ccm	Adsorbierte Hemicellulosen in 25 ccm	A. W.	c g pro Liter
Hemicellulosen	g Al_2O_3				
0,0095	0,0273	25	0,0030	0,110	0,26
0,0095	0,0815	25	0,0045	0,055	0,20
0,0095	0,1365	25	0,0045	0,033	0,20
0,0095	0,2730	25	0,0057	0,021	0,15

Es zeigt sich, daß hier die Adsorptionswerte gegen vorhin wieder zugenommen haben, daß aber hier kein reiner Stoff vorliegt.

Aus den vorliegenden Versuchen müssen wir nun folgende Schlüsse ziehen:

1) Ausser der Säure liegt ein Gemisch von Stoffen von schwacher Oberflächenaktivität vor.
2) Keiner der Stoffe befindet sich in bevorzugter Konzentration.

Durch die vorliegenden Versuche ist es also gelungen, die erste Frage der Problemstellung zu beantworten. Wir haben das Versuchsmaterial endgültig als Gemisch identifiziert. Im folgenden wird nun noch dargetan, daß auch die Trennung dieses Gemisches durchführbar ist. Damit ist gezeigt, daß wir die Adsorptionsmethode, die die WILLSTÄTTER-Schule zur Enzymreinigung geschaffen hat, im wesentlichen auf die anders gearteten Verhältnisse der Kohlehydratchemie übertragen können. Es hat sich ferner gezeigt, daß auch hier eine Kombination zweier Adsorbentien, eine Methode, die sich speziell bei der Invertinreinigung bestens bewährt hat, am schnellsten zum Ziele führt. Als Adsorbentien wurden von uns noch Ferrihydroxyd und Kaolin ausprobiert. Während das erstere keinen Vorteil gegenüber der Tonerde hatte, war das Kaolin für eine Komponente des Gemisches ein spezifisch gut wirkendes Adsorbens. Aber auch die Adsorption an Tonerde muß, wenn auch langsamer, zu einem günstigen Ergebnis führen. Der weitere Gang unserer Untersuchungen ist veranlaßt durch die Schlüsse, die uns die oben gezeigten Kurven ziehen lassen.

Es wird also ein großer Versuch angesetzt, dessen Gang ist:

1) Voradsorption mit 0,02 g Aluminiumhydroxyd (auf 20 ccm), um die Säure in der Hauptsache herauszuschaffen und ihren Rest in benachteiligte Konzentration überzuführen.
2) Aufstellung einer Kurve der Restlösung, aus der wir gleichzeitig mit den Kurven (Fig. 4 u. 5) Anhaltspunkte für die Hauptadsorption erhalten.

3) Hauptadsorption der Restlösung mit 0,273 g Aluminiumhydroxyd (auf 20 ccm), um eine Anreicherung der einen Komponente am Aluminiumhydroxyd zu erhalten.

4) Elution des Aluminiumhydroxyds.

5) Aufstellung einer Kurve der eluierten Flüssigkeit, die uns bestätigen muß, daß durch die Hauptadsorption und die darauffolgende Elution das gewünschte Ergebnis erreicht wurde, nämlich die Anreicherung einer Komponente.

1. Voradsorption:

500 ccm Lösung enthielten 0,62 g Hemicellulosen von Flachs. Diese Lösung wurde nun mit 0,685 g Al_2O_3 in 125 ccm Wasser voradsorbiert. Die Mengenverhältnisse entsprechen hier genau dem Versuche im kleinen. Die 625 ccm Restlösung enthielten noch 0,50 g Hemicellulosen. Folglich sind 0,12 g adsorbiert worden, also 19,4 %. A. W. = 0,192; c = 0,8. Wie sich vorher gezeigt hat, sind wir berechtigt anzunehmen, daß die durch die Voradsorption herausgeholten 19,4 % Säure sind.

2. Kurve der Restlösung.

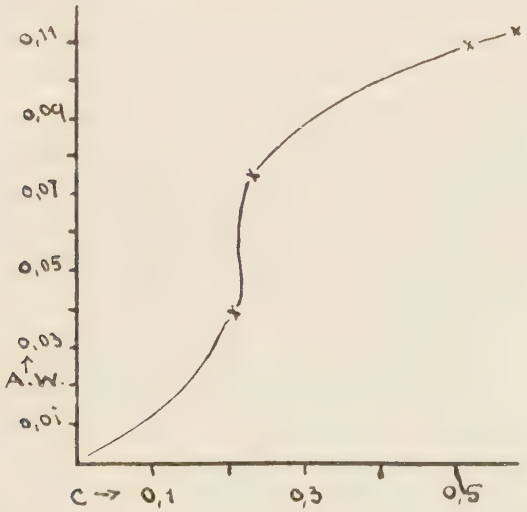


Fig. 6.

Kurve, der mit 1 ccm Aluminiumhydroxyd voradsorbierten Hemicellulosenlösung.
Anfangskonzentration = 0,64.

Angewandte Mengen		Vol. ccm	Adsorbierte Hemicellulosen in 25 ccm	A. W.	c g pro Liter
Hemicellulosen	g Al_2O_3				
0,0160	0,0136	25	0,0015	0,110	0,58
0,0160	0,0273	25	0,0030	0,109	0,52
0,0160	0,1365	25	0,0102	0,075	0,23
0,0160	0,2730	25	0,0108	0,039	0,21

Von dieser voradsorbierten Lösung werden nun 100 ccm zur Aufstellung einer Kurve verwendet. In diesen 100 ccm befinden sich 0,08 g Hemicellulosen. Es wird also in einer 0,064 proz. Lösung adsorbiert. Die Mengen des angewandten Al_2O_3 sind 0,5; 1,0; 5,0 und 10,0 ccm. Die Kurve zeigt bei hoher Restlösungskonzentration und kleiner Adsorbensmenge zwar die höchsten Adsorptionswerte, wie es nach der normalen Adsorptionsisotherme zu fordern ist, unterscheidet sich aber sonst immer noch beträchtlich von dieser. Statt gleichmässig gegen den 0-Punkt hin zu fallen, hat die Kurve beim 5 ccm-Punkt einen scharfen Knick und durch 10 ccm Al_2O_3 erhalten wir bei fast gleicher Restlösungskonzentration einen bedeutend niedrigeren Adsorptionswert. Diese Erscheinung läßt sich vielleicht dahin deuten, daß rund 50 Proz. eines Stoffes leicht vom Adsorbens aufgenommen werden, während in der Restlösung ein Stoff von schwächerer Oberflächenaktivität hinterbleibt.

3. Hauptadsorption der Restlösung.

Zur Hauptadsorption wurden 240 ccm der Restlösung genommen, die 0,192 g Hemicellulosen enthielten. Zu dieser Lösung wurden 3,276 g Al_2O_3 — entsprechend 0,273 g Al_2O_3 in der Kurve — in 60 ccm Wasser gegeben. Die 300 ccm Restlösung enthielten dann noch 0,06 g Hemicellulosen. Es sind also 0,132 g d. i. 68,75 % adsorbiert worden. Das entspricht einem Adsorptionswert von 0,403; c = 0,2.

Über die Ausführung des Versuches ist folgendes zu sagen: Die zum Versuch nötige Menge Al_2O_3 wurde der vorrätigen Aufschlemmung entnommen, die vorher, wie jedesmal, eine Stunde auf der Maschine geschüttelt worden war. Da in 10 ccm 0,273 g Al_2O_3 enthalten waren, so waren 120 ccm der Suspension nötig (= 3,27 g Al_2O_3). Das Aluminiumhydroxyd wurde abzentrifugiert und aus den Zentrifugenbechern quantitativ in 60 ccm destilliertem Wasser aufgenommen. So erreichen wir denselben Grad der Verdünnung des Adsorbendums wie beim kleinen Versuch. Durch $1^1/_2$ stündiges Schütteln auf der Schüttelmaschine mit Glasperlen erhielten wir

wieder eine vollkommen homogene Emulsion. Diese wurde in die Lösung der Hemicellulosen gegeben. Nachdem wieder 2—3 Minuten kräftig durchgeschüttelt worden war, ließen wir 10 Minuten stehen, ehe vom Aluminiumhydroxyd abzentrifugiert wurde. So hoffen wir eine möglichst getreue Übersetzung der 25 ccm-Adsorption ins Große erreicht und Fehler, die einen veränderten Verlauf der Adsorption bedingen könnten, nach Möglichkeit ausgeschaltet zu haben.

4. Elution des Aluminiumhydroxyds.

Die abzentrifugierten 3,276 g Al_2O_3, an denen 0,132 g Hemicellulosen adsorbiert sind, wurden mit 16,380 g Diammonphosphat in 327 ccm wässriger Lösung eluiert. Nach Fällen des Phosphats mit 60 ccm Magnesiamixtur wird die Lösung 24 Stunden im Pergamentbeutel dialysiert. Sie ist nach dieser Zeit chloridfrei und gibt auch keine Reaktion auf Magnesiumion mehr. In den 387 ccm Lösung sind nun noch 0,0855 g Hemicellulosen. Es sind also 64,78 % eluiert worden.

Über die Ausführung der Elution läßt sich kurz berichten: Die zur Elution notwendige Menge Diammonphosphat berechnet sich nach dem Al_2O_3. Im vorliegenden Fall wurde die fünffache Menge des Al_2O_3 an Diammonphosphat genommen und in 5 proz. Lösung angewandt. Also auf 3,27 g Al_2O_3 16,38 g Diammonphosphat in 327 ccm Wasser. In diese Lösung wurde dann das Aluminiumhydroxyd mit den daran adsorbierten Hemicellulosen eingetragen und sofort kräftig geschüttelt, bis eine vollkommen einheitliche Emulsion vorlag. Die Elution blieb ungefähr 1 Stunde stehen, dann wurde vom Aluminiumhydroxyd abzentrifugiert. Da wir über die Art und Geschwindigkeit der Elution in Frage kommenden Stoffe nichts Näheres wußten, so war diese Zeit vollkommen willkürlich gewählt. Trotzdem ließ sich an Hand analoger Beispiele die gewählte Zeit als nicht ungünstig erkennen. H. KRAUT stellt am Beispiel einer Invertinelution fest, daß die ersten eluierten Anteile meist anders zusammengesetzt sind, und zwar reiner als die durch lange Einwirkung des Eluens entstehende Restlösung. Daraus geht hervor, daß für eine Fraktionierung die Elution möglichst kurz zu wählen ist. Aus der vom Aluminiumhydroxyd abzentrifugierten Lösung wurde, wie bereits erwähnt, das Phosphat mit Magnesiamixtur gefällt und die vollkommen klare Flüssigkeit im Pergamentbeutel dialysiert.

5. Kurve der eluierten Flüssigkeit.

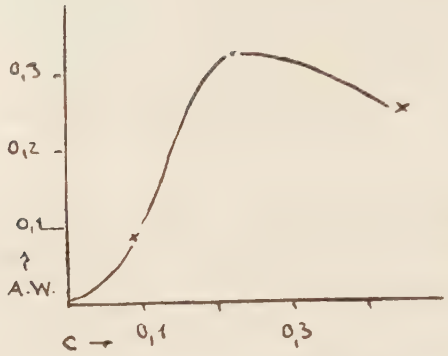


Fig. 7.
Kurve des Eluats von der Hauptadsorption.
Anfangskonzentration = 0,58.

Angewandte Mengen		Vol. ccm	Adsorbierte Hemicellulosen in 25 ccm	A. W.	c g pro Liter
Hemicellulosen	g Al_2O_3				
0,0145	0,0136	25	0,0035	0,257	0,44
0,0145	0,0273	25	0,0090	0,331	0,22
0,0145	0,1365	25	0,0123	0,090	0,09

Die eluierte Lösung wurde nun im Vakuum ungefähr auf die dreifache Konzentration eingedampft. Mit dieser Lösung, die in 10 ccm 0,0058 g enthält, wird eine Kurve aufgestellt. Die Adsorptionswerte sind bis zur dreifachen Höhe der Hauptadsorption gestiegen. Wir entnehmen daraus, daß ein gut adsorbierbarer Stoff angereichert ist. Auch der Verlauf der Kurse ist wesentlich günstiger wie bisher, wenn er auch noch beträchtlich von der normalen Isotherme abweicht. Wir haben früher gesehen, daß die normale Isotherme bei steigender Restlösungskonzentration eine Sättigung des Adsorbens erwarten läßt. Hier hingegen wird mit steigender Restlösungskonzentration rasch ein Maximum erreicht. Von da fallen die Adsorptionswerte dann wieder rasch ab. Statt, wie man denken sollte, daß vom kleinsten Zusatz Al_2O_3 der höchste Adsorptionswert erreicht werden sollte, tritt hier das Maximum erst nach Adsorption von ungefähr zwei Drittel der gesamten Hemicellulosen ein. Die Ursache ist wohl darin zu suchen, daß eben die Anreicherung einer Komponente erfolgte, während die andere in benachteiligte Konzentration gelangte und die Kurve als Verunreinigung beeinflußt.

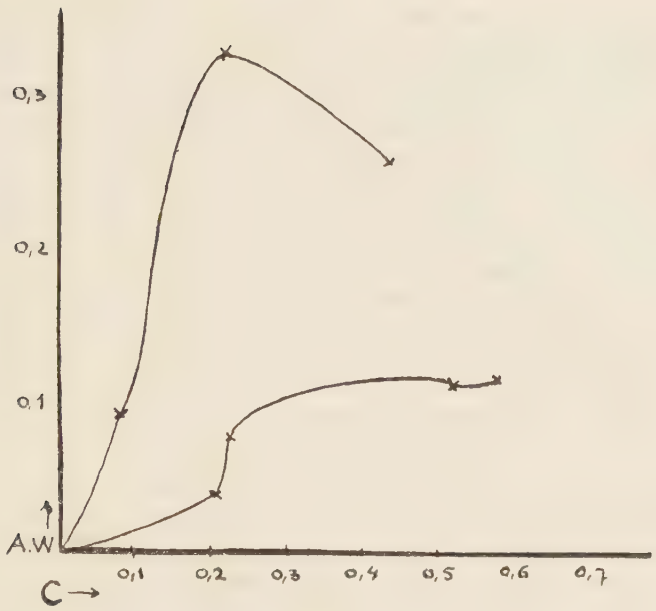


Fig. 8.

Vergleich der Kurven von Fig. 6 und 7.
Anfangstkonzentration = 0,64 für 1
= 0,58 für 2.

Stellen wir nun zum Schluß die beiden Kurven, die der Hauptadsorption und die der Elution einander gegenüber, so sehen wir, daß die Adsorptionswerte bei 2 bedeutend — bis zum dreifachen — angewachsen sind. Das Bild der Adsorptionskurve ist so völlig verändert, daß eine Veränderung der Assoziation des Gemisches deutlich erkennbar wird. Wir können also feststellen, daß eine Komponente in bevorzugte Konzentration gekommen ist und daß durch weitere Adsorption eine Fraktionierung des Gemisches möglich sein wird.

Adsorptionsversuche mit Ferrihydroxyd und Kaolin als Adsorbens.

Es wurde bereits erwähnt, daß sich bei der Reinigung von Invertin die Kombination zweier verschiedener Adsorptionsmittel erfolgreich durchführen ließ. Die Erklärung für diese Tatsache ist darin zu suchen, daß bei der Adsorption nicht allein die Grenzflächenentwicklung des adsorbierenden Stoffes den Ausschlag gibt, sondern

seine spezifische Natur eine, wenn auch heute noch unbekannte Rolle spielt. Aus dieser Erwägung heraus sind auch die folgenden Versuche durchgeführt worden.

Es wurden zwei Adsorptionsmittel untersucht, und zwar ein natürliches, das geschlemmte Kaolin und ein künstlich hergestelltes, Ferrihydroxyd. Nach WILLSTÄTTER und RACKE[1] läßt sich die Brauchbarkeit von Kaolin noch erhöhen, wenn man es tagelang mit konzentrierter Salzsäure auskocht. Dabei gehen, wie H. KRAUT mitteilt,[2] die Beimengungen von Eisen und Calcium und auch ein Teil des Aluminiums in Lösung und es hinterbleibt ein kieselsäurereiches Aluminiumsilikat. Das Kaolin ist also ein saures Adsorbens, das für Stoffe basischer Natur besonders geeignet erscheint, während das basische Ferrihydroxyd,[3] das an Beständigkeit dem Aluminiumhydroxyd etwas nachsteht, wohl für die Adsorption von Säuren und ihren Verbindungen in Betracht zu kommen hat.

Ausführung der Versuche:

Die Lösung von Hemicellulosen von Flachs war in bekannter Weise mit Aluminiumhydroxyd zur Entfernung der Säure voradsorbiert worden. Von dieser Lösung wurden dann mit je 4 Punkten (0,5; 1,0; 5,0 und 10,0 ccm Al_2O_3) Kurven aufgestellt, die der Aluminiumhydroxydkurve (Fig. 6) gegenübergestellt werden. Da die einzelnen Kurven zu verschiedener Zeit aufgenommen wurden, sind die Anfangskonzentrationen verschieden. Es war leider nicht mehr möglich sie bei gleicher Anfangskonzentration zu wiederholen.

---

[1] V. Abhandlung zur Kenntnis des Invertins, Zeitschr. f. phisiol. Chem. Bd. **133**, 193 (1924) u. 204, 210.

[2] H. KRAUT, Habilitationsschrift, München 1925, S. 18.

[3] B. **57**, 1498 (1924).

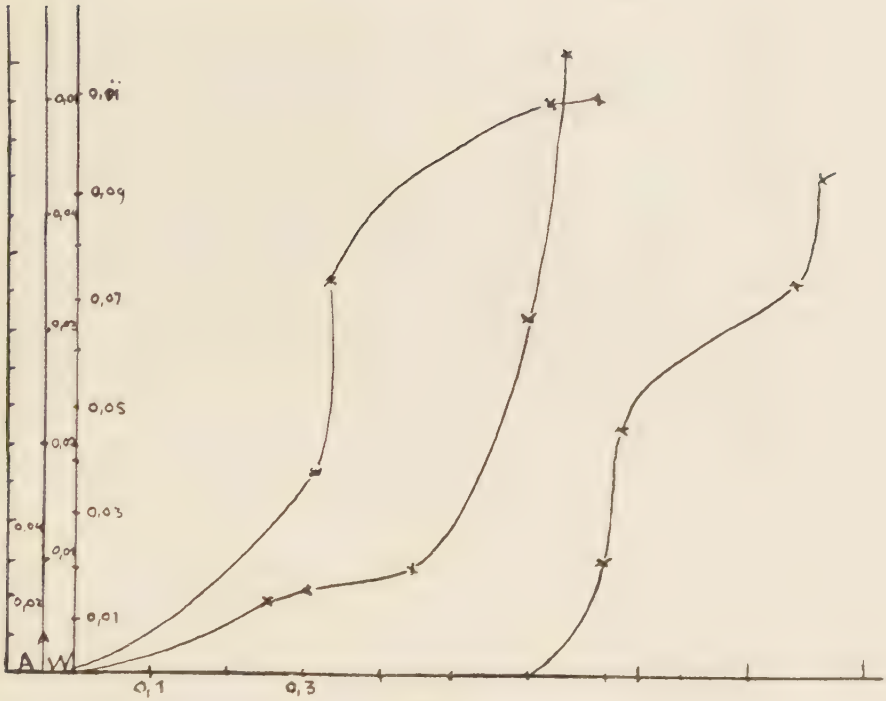


Fig. 9.

Vergleichung der Adsorptionskurven von Aluminiumhydroxyd (1), Ferrihydroxyd (2) und Kaolin (3).

K_1, K_2, K_3 = Anfangskonzentration der Kurven 1, 2 und 3.

Angewandte Mengen		Vol. ccm	Adsorbierte Hemicellulosen in 25 ccm	A. W.	c
Hemicellulosen	g Al_2O_3				g pro Liter
1) 0,0160	0,0136	25	0,0015	0,110	0,58
0,0160	0,0273	25	0,0030	0,109	0,52
0,0160	0,1365	25	0,0102	0,075	0,23
0,0160	0,2730	25	0,0108	0,039	0,21
2) 0,0187	0,0136	25	0,0062	0,160	0,54
0,0187	0,0273	25	0,0075	0,097	0,49
0,0187	0,1365	25	0,0112	0,029	0,34
0,0187	0,2730	25	0,0162	0,021	0,14
3) 0,0237	0,0136	25	0,0117	0,044	0,88
0,0237	0,0273	25	0,0029	0,0456	0,84
0,0237	0,1365	25	0,0085	0,022	0,61
0,0237	0,2730	25	0,0093	0,012	0,59

Kurve 1 Al_2O_3: Kurve 2 Ferrihydroxyd: Die kleinste Menge Ferrihydroxyd nimmt bei großer Restlösungskonzentration sehr viel des Adsorbendums an sich. Dann aber fällt die Kurve sehr steil ab. Sie bedeutet im Vergleich mit der Aluminiumhydroxydkurve keinen Vorteil.

Kurve 3 Kaolin: Die Kurve ist viel flacher wie 2. Die niedrigen Adsorptionswerte sind jeder Kaolinkurve eigen. Das Ende der Kurve scheint bei 50% der Ausgangskonzentration zu liegen. Um über die Verhältnisse der Restlösung des 10 ccm-Punktes Aufschluß zu erhalten, wird eine Kurve dieser Restlösung aufgenommen. Voradsorption mit Aluminiumhydroxyd in bekannter Weise, dann Hauptadsorption mit 10 ccm (auf 20 ccm Lösung) Kaolin.

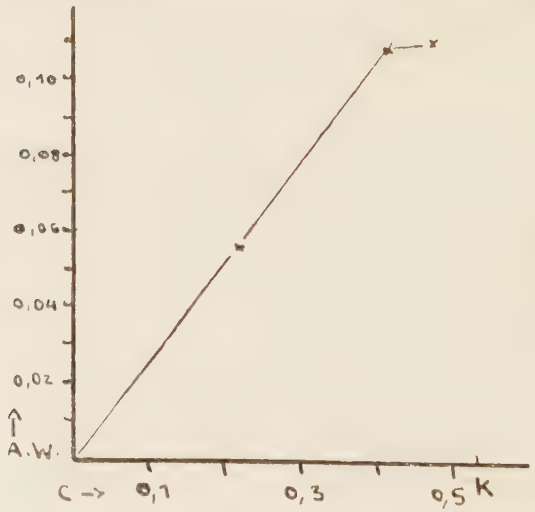


Fig. 10.
Kurve der Restlösung des 10 ccm Punktes bei der Kaolinadsorption. Die Kurve ist mit Aluminiumhydroxyd aufgenommen.

Angewandte Mengen		Vol. ccm	Adsorbierte Hemicellulosen in 25 ccm	A. W.	c g pro Liter
Hemicellulosen	g Al_2O_3				
0,0132	0,0136	25	0,0015	0,11	0,47
0,0132	0,0273	25	0,0030	0,109	0,41
0,0132	0.1365	25	0,0077	0,056	0,22

Die Kurve läßt erkennen, daß in der Restlösung ein einheitlicher Stoff vorherrscht. Es scheint also, daß durch geeignete Kombination vom Aluminiumhydroxyd und Kaolin sich eine quantitative Trennung ermöglichen läßt.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich dahin zusammenfassen:

Die Adsorption der Hemicellulosen nimmt den Verlauf, der für die Adsorption von Gemischen beliebiger Substanzen zu erwarten ist. Durch ihre Abweichung von der normalen Freundlichschen Isotherme geben diese verschiedenartig verlaufenden Kurven gewisse Anhaltspunkte für die Gegenwart und das Adsorptionsverhalten der das Gemisch bildenden Komponenten. Darüber hinaus aber kann auch die quantitative Trennung der einzelnen Kohlehydrate nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit als möglich bezeichnet werden. Es ist damit gelungen zu zeigen, daß die Adsorptionsmethode, wie sie R. WILLSTÄTTER für seine Enzymarbeiten geschaffen und entwickelt hat, im allgemeinen für die Kohlehydratchemie anwendbar ist und hier wohl mit dazu beitragen kann noch bestehende Unklarheiten zu klären.

Zusammenfassung.

1. An der Zuckerrübe und an der Orange wurde gezeigt, daß ein Teil der Hemicellulosen in Natriumsulfit löslich ist.
2. Es bedarf zur vollständigen Lösung der Hemicellulosen in Natriumsulfit keiner Chlordioxydeinwirkung wie bei den Zellmembranen, die einen vom Clordioxyd angreifbaren Membranbestandteil enthalten.
3. Bei solchen Zellwänden, bei denen der vom Chlordioxyd angreifbare Bestandteil fehlt, fällt Chlordioxyd- und Natriumsulfitstabilität nicht zusammen.
4. Amoniumsulfit kann nicht an Stelle von Natriumsulfit zum Aufschluß verwendet werden, da eine gegen Natriumsulfit stabile Skelettsubstanz von Ammoniumsulfit noch weiter angegriffen werden kann.
5. Die titrimetrische Bestimmung einer polymeren Säure in der Skelettsubstanz der Buche wird durch die präparative Isolierung dieser Säure bestätigt.
6. Durch fraktionierte Extraktion lassen sich die Bestandteile der Skelettsubstanz, Cellulose, Säure und Hemicellulosen voneinander trennen.
7. Die Säure muß in der Skelettsubstanz der Buche esterartig gebunden sein.
8. Die von R. WILLSTÄTTER und Mitarbeitern an den Enzymen herausgebildete Adsorptionsmethode läßt sich auf dem Gebiet der Kohlehydrate anwenden, um festzustellen, ob ein Gemisch vorliegt oder ein einheitlicher Stoff.
9. Nach der Behandlung der Skelettsubstanz des Flachses mit 5proz. Natronlauge erhält man ein Gemenge von Hemicellulosen. Durch die Kombination von Polyaluminiumhydroxyd A und Kaolin läßt sich dieses Gemenge quantitativ in seine Einzelbestandteile zerlegen.

Lebenslauf.

Am 21. Dezember 1900 wurde ich als Sohn des derzeitigen Oberstudiendirektors Professor Eduard Steigerwaldt und seiner Frau Kunigunde, geb. Werthmüller, in München geboren. Vom Jahre 1911 an besuchte ich das Kgl. Wilhelmsgymnasium zu München, das ich im Januar des Jahres 1918 nach abgelegter Notprüfung verließ, um als Fahnenjunker in das 1. Kgl. bayer. Infanterieregiment „König" einzutreten. Im Oktober 1918 kam ich ins Feld und machte hier die Schlußkämpfe meines Regiments mit. Nach der Rückkehr aus dem Feld wurde ich als Fähnrich vom Militärdienst entlassen und legte im Kriegssonderkurs des Wilhelmsgymnasiums zu München mein Absolutorium ab. Im Wintersemester 1920/21 belegte ich an der Technischen Hochschule zu München allgemeine naturwissenschaftliche Vorlesungen. Von April 1921 bis November 1921 war ich als Praktikant an der St. Anna-Apotheke zu München. Im Wintersemester 1921/22 studierte ich dann im ersten Semester Chemie an der Technischen Hochschule und vom Sommersemester 1922 an am Staatslaboratorium. Meine anorganische Ausbildung erhielt ich hier in der Abteilung von Herrn Professor O. HÖNIGSCHMID. Am 11. Januar 1924 machte ich unter Herrn Geheimrat Professor Dr. WILLSTÄTTER mein erstes Verbandsexamen, am 18. Mai 1925 das Doktorandum. Im Juni 1925 begann ich unter Leitung von Herrn Professor E. SCHMIDT meine Promotionsarbeit, die ich im Dezember 1926 beendete.